



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102512408 B

(45) 授权公告日 2015. 11. 25

(21) 申请号 201110304561. 7

A61P 7/04(2006. 01)

(22) 申请日 2005. 11. 28

A61P 9/12(2006. 01)

(30) 优先权数据

0426141. 8 2004. 11. 26 GB

0426142. 6 2004. 11. 26 GB

(56) 对比文件

CN 1383815 A, 2002. 05. 08, 全文.

姜忠妹等. 肝性脑病药物的去氨作用.《中国药业》. 2004, 第 13 卷 (第 7 期), 第 78-79 页.

(62) 分案原申请数据

200580046990. 1 2005. 11. 28

审查员 樊婵娟

(73) 专利权人 UCL 商业有限公司

地址 英国伦敦

(72) 发明人 R·贾兰 K·N·贾兰

(74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司

公司 11285

代理人 张广育 姜建成

(51) Int. Cl.

A61K 31/198(2006. 01)

A61K 31/192(2006. 01)

A61P 9/00(2006. 01)

A61P 31/00(2006. 01)

A61P 31/04(2006. 01)

A61P 1/00(2006. 01)

A61P 1/16(2006. 01)

权利要求书1页 说明书21页 附图15页

(54) 发明名称

用于治疗肝性脑病的含有鸟氨酸和苯基乙酸或苯基丁酸的组合物

(57) 摘要

本发明涉及鸟氨酸用于制备与苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种联合使用以预防和治疗肝失代偿或肝性脑病的药物的用途。本发明还涉及苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种用于制备与鸟氨酸联合使用以预防和治疗肝失代偿或肝性脑病的药物的用途。

1. 苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种与鸟氨酸在制备在患有肝性脑病、肝硬变或肝衰竭的受试者中减少氨浓度的药物中的用途。
2. 权利要求 1 的用途,其中所述受试者患有脑肿胀。
3. 权利要求 1 的用途,其中所述受试者患有胃肠出血。
4. 权利要求 1 的用途,其中所述受试者患有食管静脉曲张。
5. 权利要求 1 的用途,其中所述受试者患有门静脉高压。
6. 权利要求 1 的用途,其中所述鸟氨酸和所述的苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种存在于一种单一药物组合物中。

用于治疗肝性脑病的含有鸟氨酸和苯基乙酸或苯基丁酸的组合物

[0001] 本申请是申请日为2005年11月28日,申请号为200580046990.1,发明名称为“用于治疗肝性脑病的含有鸟氨酸和苯基乙酸(phenylacetate)或苯基丁酸(phenylbutyrate)的组合物”的发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及对肝失代偿或肝性脑病的预防和治疗。

背景技术

[0003] 慢性肝病的特征是肝组织随时间逐渐遭到破坏,从而导致健康的和再生的肝组织慢慢被瘢痕组织和坏死组织替代。这种现象被认为是肝硬化。正常肝功能受到损害,并且瘢痕组织逐渐减少肝内血流。正常的再生肝组织损失时,营养物、激素、药物和毒素就不再有效地得到处理。

[0004] 这就可能导致多种症状,包括:通过肠道吸收的蛋白质的清除异常导致氨的蓄积;分泌异常导致血液中胆红素蓄积,产生黄疸;窦压升高导致腹部液体蓄积(腹水);以及门静脉高血压(门体循环分流)——其中形成瘢痕的肝组织起到血流屏障的作用——导致门静脉血压升高和食管静脉曲张。

[0005] 慢性肝病患者可具有很稳定的临床状态,并表现出很少的症状或者根本不表现出症状。然而,这类患者会有病症突然恶化的风险,这种恶化可导致慢加急性肝衰竭。这种从肝脏能起作用(即便水平有所降低)的“代偿”状态到肝脏不能起作用的“失代偿”状态的转变与促发事件的作用有关。与慢性肝病相关的促发事件包括胃肠出血、感染(脓毒症)、门静脉血栓形成和脱水。

[0006] 例如,50%的肝硬化患者患有食管静脉曲张,其中三分之一的患者在确诊的两年内会突然发生食管静脉曲张,并导致胃肠出血(Grace ND(1992)Gastroenterol Clin North Am 21:149-161)。已知上消化道出血可增加对危及生命的并发症的敏感性,所述并发症例如细菌性腹膜炎、脓毒症、肾衰竭和肝性脑病(Teran et al.(1997)Gastroenterology 112:473-482;Garden et al.(1985)Br J Surg 72:91-95;Pauwels et al.(1996)Hepatology 24:802-806;Bleichner et al.(1986)Br J Surg 73:724-726),尽管对出血进行了足够的控制,但仍由此造成约30%的患者死亡(Grace 1992,同上)。

[0007] 肝性脑病(HE)是一种发生于多种临床条件例如急性或慢性肝病和自发性门体静脉分流中的复杂神经性精神病症。肝性脑病早期会发生些微精神变化例如思维不集中、意识错乱和定向障碍。在严重的情况下,肝性脑并可导致木僵、昏迷、脑肿胀(脑水肿)和死亡。对于因慢性肝病而发生HE的患者,HE的发病通常是由临床促发事件例如胃肠出血、脓毒症(感染)、门静脉血栓形成或脱水造成的结果。

[0008] 胃肠出血和门体分流可使通常由肝代谢的毒性物质经过肝进入体循环,并跨过血脑屏障,以对中枢神经系统产生直接或间接神经毒性作用。氨的蓄积被认为在肝性脑病和

多器官衰竭（呼吸衰竭、心血管衰竭、肾衰竭）的进程中具有重要的作用。除氨外，胃肠出血后随即发生的败血症（或细菌性腹膜炎）也可能是促发肝性脑病的一个因素。

[0009] 由此肝失代偿可导致多器官衰竭和肝性脑病。在肝性脑病早期可发生一些微小的变化，例如思维不集中或不能构建简单物体。严重的情况下，肝性脑病可导致木僵、昏迷、脑肿胀和死亡。

[0010] 由于慢性肝病存在许多病因，因此很难对慢性肝病患者的预后作出估计。尽量不使代偿状态向失代偿状态发展的预防性措施包括避开会使疾病恶化的其他致病因素，例如彻底戒酒和针对甲型和乙型肝炎进行接种。

[0011] 然而，一旦发生肝失代偿，生存的几率就有所下降，而肝移植是唯一可延长生命的治疗方法。由于肝失代偿导致寿命缩短，因此十分需要防止肝失代偿的发生。

[0012] 对肝性脑病患者的通常疗法包括使氨浓度减小的方法。这些方法包括限制膳食蛋白质的摄入，给予乳果糖、新霉素、L- 鸟氨酸 L- 天冬氨酸 (LOLA) 或苯甲酸钠，和清洁灌肠。

发明内容

[0013] 本发明涉及苯基乙酸 (phenylacetate) 和苯基丁酸 (phenylbutyrate) 中的至少一种以及鸟氨酸用于预防或治疗患者肝失代偿或肝性脑病 (HE) 的用途。对于因例如胃肠出血而还患有异亮氨酸缺乏的患者还可给予异亮氨酸。因此，本发明提供：

[0014] ——鸟氨酸用于制备与苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种联合使用以预防或治疗肝失代偿或肝性脑病的药物的用途；

[0015] ——苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种用于制备和鸟氨酸联合使用以预防或治疗肝失代偿或肝性脑病的药物的用途；

[0016] ——苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸用于制备预防或治疗肝失代偿或肝性脑病的药物的用途；

[0017] ——含有苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸的产品，同时、分别或相继使用以预防或治疗肝失代偿或肝性脑病；

[0018] ——一种含有苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸的药物组合物；

[0019] ——一种用于预防或治疗肝失代偿或肝性脑病的药剂，含有苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸；和

[0020] ——一种治疗肝失代偿或肝性脑病患者或具有肝失代偿或肝性脑病患病风险的方法，所述方法包括向所述患者给予有效量的苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸。

附图说明

[0021] 图 1 表示硬变患者的嗜中性粒细胞功能发生改变，并随肝病加重而恶化。

[0022] 图 2 表示氨减弱嗜中性粒细胞的吞噬作用。

[0023] 图 3 表示氨减弱嗜中性粒细胞的趋化作用。

[0024] 图 4 表示氨对嗜中性粒细胞的吞噬作用的影响可通过干预而得到逆转。

[0025] 图 5 表示模拟的胃肠出血可减弱嗜中性粒细胞的趋化作用，所述趋化作用的减弱可通过给予异亮氨酸而被部分逆转。

- [0026] 图 6 表示模拟的出血减少蛋白质合成并不适当地刺激异亮氨酸的氧化。
- [0027] 图 7 表示在模拟的出血过程中给予异亮氨酸可增强蛋白质合成,但不降低氨浓度。
- [0028] 图 8 表示给予 LOLA 可降低氨浓度但会使氨再生。
- [0029] 图 9 表示主动除去谷氨酰胺可防止氨浓度再次升高。
- [0030] 图 10 表示苯基乙酸与谷氨酰胺结合从而生成可分泌化合物,并且苯基乙酸预防氨再次增加。
- [0031] 图 11 表示鸟氨酸和苯基丁酸对晚期硬变患者的氨水平的影响。
- [0032] 图 12 表示鸟氨酸和苯基丁酸对晚期硬变患者的谷氨酰胺水平的影响。
- [0033] 图 13 表示用安慰剂、O、P 或 O+P 治疗的患者的精神状态的变化。
- [0034] 图 14 表示鸟氨酸、苯基丁酸和异亮氨酸对晚期硬变患者的氨水平的影响。
- [0035] 图 15 表示鸟氨酸、苯基丁酸和异亮氨酸对晚期硬变患者的谷氨酰胺水平的影响。
- [0036] 图 16 表示鸟氨酸、苯基丁酸和异亮氨酸对晚期硬变患者的甘氨酸水平的影响。
- [0037] 图 17 表示鸟氨酸、苯基丁酸和异亮氨酸对晚期硬变患者的异亮氨酸水平的影响。
- [0038] 图 18 表示鸟氨酸、苯基丁酸和异亮氨酸对晚期硬变患者的鸟氨酸水平的影响。
- [0039] 图 19 表示在胆管结扎大鼠模型中,鸟氨酸和苯基丁酸对动脉中氨的影响。
- [0040] 图 20 表示在胆管结扎大鼠模型中,鸟氨酸和苯基丁酸对血浆中鸟氨酸的影响。
- [0041] 图 21 表示在高血氨急性肝衰竭大鼠模型中,鸟氨酸、苯基丁酸和异亮氨酸对动脉血浆氨水平的影响。
- [0042] 图 22 表示在用 OP 治疗急性肝衰竭的血行阻断猪模型中,动脉氨水平的增加程度变小。
- [0043] 图 23 表示在 O 和 OP 治疗的动物中,通过肌肉去除血氨(从股静脉-股动脉中取样)。相比之下,使用安慰剂和单独使用 P 的动物表现出肌肉产生的氨增加。
- [0044] 图 24 表示在除 OP 治疗的动物之外的所有动物中,消化道产生氨(从门静脉排流组织(portal drained viscera)-动脉取样)。
- [0045] 图 25 表示单独使用 O 增加了肌肉谷氨酰胺的释放,但单独使用 P 并不使之增加。OP 使得肌肉谷氨酰胺显著更多地释放(由此以肌肉中谷氨酰胺的形式捕获氨)。
- [0046] 图 26 表示 O 增强消化道对谷氨酰胺的吸收,但 OP 使其吸收减少(由此减少消化道中产生的氨)。
- [0047] 图 27 表示在给药的两组动物(单独给予 O 的组和给予 OP 的组)中,动脉鸟氨酸水平升高。
- [0048] 图 28 表示使用 O 时动脉谷氨酰胺水平升高,但使用 OP 时该水平升高较少。
- [0049] 图 29 表示联合使用 OP 可防止氨源氨基酸甘氨酸的增加。
- [0050] 图 30 表示单独使用鸟氨酸可造成脑积水增加,苯基乙酸诱导脑积水减少的程度很小,但将这些药剂联合就显著减少脑积水(对照%)。

具体实施方式

[0051] 本说明书和随附的权利要求书通篇中的词语“包含”和“包括”及其变化形式例如“包含了”、“包含有”、“包括了”、“含有”均做非排他性解释。也就是,这些词语意在表示可能

包括未明确述及的但上下文所允许的其他要素或整数。

[0052] 本发明涉及在发展成肝失代偿之前以及在由此而发生肝性脑病之前,为预防或延迟肝失代偿发病而对肝病患者进行的早期治疗。此外,本发明涉及通过有效减少氨浓度和维持嗜中性粒细胞功能来对肝性脑病进行的治疗。

[0053] 待治疗的受试者

[0054] 本发明涉及预防或治疗肝失代偿或肝性脑病。因此受试者的肝应处于代偿状态。受试者可患有慢性肝病。受试者可患有肝硬化。受试者可患有急性肝衰竭。待治疗的受试者可患有肝性脑病。

[0055] 急性和慢性肝病的发病可归因于异生物因素。例如受试者可能已暴露于某种造成肝损害的化学物质、药物或一些其他药剂。受试者可能对导致肝损害的非处方药、处方药或“消闲性”药物有反应。受试者可能服用了 Rezul in™(曲格列酮;Parke-Davis)、Serzone™(奈法唑酮;Bristol-Myers Squibb)或者其他被认为导致肝损害的药物。受试者可能服用了过量的特定药物或服用了超过推荐剂量的、可导致肝损害的药物。例如受试者可能服用了过量的对乙酰氨基酚。受试者可能例如在他们的工作地点已暴露于可导致肝损害的化学物质。例如,受试者可能在工业或农业环境中已暴露于这类化学物质。受试者可能已摄入了含有可导致肝损害的化合物的植物,尤其当受试者是动物例如食草动物时可能发生这种情况。例如,受试者可能摄入了含有吡咯联啉生物碱的植物例如美狗舌草。受试者可能已暴露于被认为会导致肝病的环境毒素。

[0056] 药物相关肝毒性造成所有急性肝病(急性肝衰竭)病例的 50%以上。在美国和英国,扑热息痛(也称为对乙酰氨基酚和 N-乙酰对氨基苯酚)毒性是引起急性肝衰竭的最常见原因。服用治疗量或稍微过量扑热息痛的长期中重度饮酒者具有患严重肝损伤和可能为急性的肝衰竭的风险。饮酒可增强扑热息痛的毒性作用。特应性药物毒性也会引起急性肝衰竭。特应性药物毒性被认为是一种超敏反应,在这种反应中受试者是以异常的药理学方式产生对药物的反应。这种异常反应可导致急性肝衰竭。

[0057] 急性肝衰竭或慢性肝病可以由病原微生物感染所致。例如,肝病可以由病毒感染所致的。尤其地,受试者可能被或已被导致肝炎的病毒感染。受试者可能患有慢性病毒性肝炎。所述病毒可以是例如乙型、丙型或丁型肝炎病毒。在某些情况下,尤其在受试者患有病毒性肝炎的情况下,该受试者还可被 HIV-I 或 II 感染。受试者可以是 AIDS 患者。受试者可能已被或将被其他导致肝病的微生物、尤其是那些在其生命周期的某些阶段存在于肝中的微生物感染。例如,受试者中可能有或已有肝吸虫。

[0058] 受试者可患有导致慢性肝病或增加患慢性肝病风险的遗传性疾病。例如受试者可患有肝血色素沉着病、威尔逊(氏)病或 α -1-抗胰蛋白酶缺乏症中的一种或多种疾病。受试者可患有导致某种肝结构或功能异常的遗传性病症,所述肝结构或功能异常增加了肝纤维化的几率。受试者可在遗传上易发生损害肝并因此引起肝纤维化的自身免疫性疾病。

[0059] 慢性肝病可以是酒精诱导的。待治疗的男性或女性可能是或已是饮酒者。他或她可能或已经每周平均摄入 50 或 50 单位以上的酒精、每周 60 或 60 单位以上的酒精、每周 75 或 75 单位以上的酒精甚至是每周 100 或 100 单位以上的酒精。该男性或女性可能或者已经每周平均摄入最多达 100 单位的酒精,每周最多达 150 单位的酒精,甚至每周最多达 200 单位的酒精。酒精的一个单位的量度各国不一。本文中,根据联合王国标准,一个单位等于

8 克乙醇。

[0060] 男性或女性摄入上述水平的酒精可已有 5 年或多于 5 年、10 年或多于 10 年、15 年或多于 15 年,或者 20 年或多于 20 年。受试者摄入上述水平的酒精可已达最多 10 年、最多 20 年、最多 30 年以及甚至最多 40 年。对于酒精诱导的肝硬化,受试者可以为例如 25 岁或 25 岁以上、35 岁或 35 岁以上、45 岁或 45 岁以上或甚至 60 岁以上。

[0061] 受试者可以是男性或女性。女性对酒精的不良作用可能比男性更敏感。相对男性而言,女性可在更短的时间段内,由更少量的酒精产生酒精性慢性肝病。造成女性对酒精性肝损害的敏感性更高的原因似乎不是唯一的,但激素对酒精代谢的影响可能具有重要的作用。

[0062] 在本发明的其他实施方案中,受试者患有许多已知会造成肝损害的其他疾病的一种或多种,所述疾病例如为原发性胆汁性肝硬变、自身免疫性慢性活动性肝炎和 / 或血吸虫病(寄生虫感染)。受试者可能将患有或已患有胆管阻塞。在某些情况下可能并不知晓导致慢性肝病的潜在原因。例如受试者可能已被诊断为原因不明的硬变。在一个实施方案中,受试者可被怀疑患有本文所列的任意疾病。

[0063] 诊断慢性肝病、急性肝衰竭和肝性脑病的方法为本领域所熟知,尤其对于本领域的临床医师和兽医而言是熟知的。优选地,受试者将被例如医学或兽医专业人员诊断为患有肝病或肝性脑病。受试者可表现出一种或多种与肝病相关的症状,例如一种或多种下述症状:黄疸、腹水、皮肤改变、液体潴留、指(趾)甲改变、易挫伤、鼻出血、食管静脉曲张,并且男性受试者可能会有乳房增大。受试者可表现出虚脱、疲劳、厌食、恶心、虚弱和 / 或体重减轻。受试者还可表现出一种或多种与肝性脑病相关的症状,例如一种或多种以下症状:意识错乱、定向障碍、痴呆、木僵、昏迷、脑水肿、多器官衰竭(呼吸衰竭、心血管衰竭或肾衰竭)、肌强直 / 肌肉强直、癫痫发作或言语障碍。待治疗的受试者可能正在服用或未服用治疗肝病的其他药物。待治疗的受试者可具有患肝性脑病的风险。

[0064] 肝病可能已经通过或将通过包括例如超声技术在内的生理检查证实。可进行肝脏活组织检查以查明积累的纤维化、坏死细胞、细胞变性和 / 或炎症以及肝病的其他特有特征。可在受试者中进行肝功能评价,以确定受试者中是否发生肝功能损害。肝病的性质和潜在病因可得到表征。暴露于肝病致病因素的任何病史均可被确定。

[0065] 待治疗的受试者可为有肝性脑病发作风险的患者,例如等待肝移植、外科手术的患者和 / 或门静脉高压的患者。具有肝性脑病发作风险的人是这样一种人:他未经历任何肝性脑病发作,或者在较长一段时间(约 12 周或更长)内未经历肝性脑病发作,但患有某种产生肝性脑病发作风险的疾病或医学病症。肝性脑病发作是一种临床疾病,其特征为肝病或肝功能障碍患者存在脑功能障碍。肝性脑病中存在许多种精神紊乱,轻则其主要影响为降低生活质量,重则可导致昏迷并最终至死亡。

[0066] 可使用评分系统对肝病与肝性脑病的严重性和对受试者的预后进行评价。可采用 Child-Pugh、West Haven 标准、格拉斯哥昏迷评分(Glasgow Coma Scale)或改进的 Child-Pugh 评分系统。或者,可采用(APACHE)II 评分系统。对包括血清胆红素水平、血清清蛋白水平等的参数和包括存在腹水或脑病等的征候分配分数。待治疗的受试者可分为 Child-Pugh 评分系统的 A、B 或 C 等级。通常待治疗的受试者被归为 Child-Pugh 评分系统的 C 等级。

[0067] 待治疗的男性或女性年龄可在例如 25 至 80 岁。在一个实施方案中,该男性或女性为 45 至 70 岁。在另一个实施方案中,该男性或女性为 25 至 44 岁。在再一个实施方案中,该男性或女性为 65 岁以上。

[0068] 但是,本发明还确实具有兽医用途。待治疗的受试者可以是养殖动物例如母牛或公牛、绵羊、猪、牛、山羊或马,或者可以是驯养动物例如狗或猫。受试者是否为肝病动物模型均可。动物可以是任何年龄的,但通常应是发育成熟的成年受试者。

[0069] 制剂

[0070] 本发明所使用的氨基酸可以是纯的晶体氨基酸。一般而言,氨基酸为 L 型而非 D 型,或者是 D 和 L 的混合物。通常使用分离形式的氨基酸。可使用任何活性形式的氨基酸以预防或治疗肝失代偿或肝性脑病。可使用可药用形式的氨基酸。使用的氨基酸可以是游离的氨基酸或者氨基酸盐或衍生物。

[0071] 鸟氨酸可以是纯的晶体氨基酸形式。一般而言,鸟氨酸为 L 型而非 D 型,或者为 D 和 L 的混合物。通常使用分离形式的鸟氨酸。可使用任何活性形式的鸟氨酸或可药用形式的鸟氨酸。使用的鸟氨酸可以是游离的氨基酸或者氨基酸盐或衍生物。

[0072] 通常,鸟氨酸以单一单体氨基酸形式使用。可使用盐形式的鸟氨酸,例如可使用鸟氨酸盐酸盐。鸟氨酸可为游离形式的生理上可接受的盐。因此鸟氨酸或鸟氨酸盐通常并不与任何其他药剂进行化学键合或共价连接。

[0073] 可使用鸟氨酸的衍生物。例如可以给予钠盐或钙盐形式的鸟氨酸的酮基或羟基类似物。鸟氨酸的酮酸包括鸟氨酸酮戊二酸盐、鸟氨酸酮亮氨酸和鸟氨酸酮缬氨酸。可使用鸟氨酸的盐或衍生物以替代游离鸟氨酸,或同时使用游离鸟氨酸。

[0074] 可使用苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种。苯基乙酸和 / 或苯基丁酸可为生理上可接受的盐形式,例如碱金属或碱土金属盐。所述盐可以是苯基乙酸钠或苯基丁酸钠。苯基乙酸和苯基丁酸的盐形式可以是游离的形式。因此苯基乙酸和苯基丁酸或者苯基乙酸盐和苯基丁酸盐通常不与任何其他药剂进行化学键合或者共价连接。

[0075] 任选使用异亮氨酸。异亮氨酸可为纯的晶体氨基酸形式。一般而言,异亮氨酸为 L 型而非 D 型,或 D 和 L 的混合物。通常使用分离形式的异亮氨酸。可使用任何活性形式的异亮氨酸或者可使用可药用形式的异亮氨酸。使用的异亮氨酸可以是游离的氨基酸或氨基酸盐或衍生物。

[0076] 通常,异亮氨酸以单一单体氨基酸形式使用。可使用盐形式的异亮氨酸,例如可使用异亮氨酸盐酸盐。异亮氨酸可为游离形式的生理上可接受的盐。因此异亮氨酸或异亮氨酸盐通常并不与任何其他药剂进行化学键合或共价连接。

[0077] 药物组合物

[0078] 通常用可药用载体或稀释剂配制用于给药的鸟氨酸和苯基乙酸和 / 或苯基丁酸。因此,可用制药领域常规的一种或多种标准可药用载体和 / 或赋形剂,将鸟氨酸和苯基乙酸和 / 或苯基丁酸配制成一种药物。制剂的确切性质将依赖于包括所需给药途径在内的多种因素。通常将鸟氨酸和苯基乙酸和 / 或苯基丁酸配制成用于口服、静脉内、胃内、血管内或腹膜内给药。

[0079] 所述药物载体或稀释剂例如可为等渗溶液例如生理盐水。固体口服形式中除活性化合物外还可含有:稀释剂例如乳糖、葡萄糖、蔗糖、纤维素、玉米淀粉或马铃薯淀粉等;润

滑剂例如二氧化硅、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁或硬脂酸钙和 / 或聚乙二醇 ; 黏合剂例如淀粉、阿拉伯胶、明胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素或聚乙烯吡咯烷酮 ; 崩解剂例如淀粉、海藻酸、海藻酸盐或羟乙酸淀粉钠 ; 泡腾混合物 ; 染料 ; 甜味剂 ; 湿润剂例如卵磷脂、聚山梨酯、硫酸月桂酯 ; 以及药物制剂中通常使用的无毒无药理学活性的物质。这类药物制剂可通过已知方式制备, 例如通过混合、制粒、压片、糖包衣或膜包衣过程制备。

[0080] 口服液体分散系可以是糖浆剂、乳剂或悬浮剂。糖浆可含有作为载体的例如蔗糖, 或者蔗糖与甘油和 / 或甘露醇和 / 或山梨糖醇。

[0081] 悬浮剂和乳剂可含有作为载体的例如天然树胶、琼脂、海藻酸钠、果胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素或聚乙烯醇。肌内注射用的悬浮剂或溶液除含苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种和鸟氨酸外, 还可含有可药用载体, 例如无菌水、橄榄油、油酸乙酯、二醇例如丙二醇, 若需要, 还可含适量的利多卡因盐酸盐。

[0082] 本发明的药物可含有鸟氨酸作为唯一的氨基酸组分。本发明的药物可含有鸟氨酸和异亮氨酸作为仅有的氨基酸组分。药物可基本上由苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸组成。药物可基本上由苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种、鸟氨酸和异亮氨酸组成。

[0083] 药物可基本上由鸟氨酸、苯基乙酸和 / 或苯基丁酸以及可药用载体组成。因此这类药物除鸟氨酸外基本上不含其他氨基酸。药物可基本上可由鸟氨酸、异亮氨酸、苯基乙酸和 / 或苯基丁酸以及可药用载体组成。因此这类药物除含鸟氨酸和异亮氨酸外, 基本上不含其他氨基酸。

[0084] 存在的苯基乙酸的量按重量计算可为鸟氨酸重量的 5% -100%, 例如 10% -50% 或 20% -40%。存在的苯基丁酸的量按重量计算可为鸟氨酸重量的 5% -100%, 例如 10% -50% 或 20% -40%。

[0085] 然而, 药物可含有非肽形式的游离天冬氨酸、谷氨酸或精氨酸, 它们通常以非显著量存在。一般, 按重量计算的天冬氨酸、谷氨酸或精氨酸的量不超过按重量计算的鸟氨酸的量。非显著量意为按重量计算的天冬氨酸、谷氨酸或精氨酸或者这些氨基酸的组合的量不超过鸟氨酸重量的 20%。因此, 药物基本上不含天冬氨酸。在一个实施方案中, 组合物不含天冬氨酸、谷氨酸或精氨酸。组合物中可存在痕量的天冬氨酸、谷氨酸或精氨酸。痕量意为按重量计算的天冬氨酸、谷氨酸或精氨酸或者这些氨基酸的组合的量不超过鸟氨酸重量的 1%。优选地, 天冬氨酸、谷氨酸或精氨酸按重量计算的量不超过鸟氨酸重量的 0.5%。

[0086] 在另一个实施方案中, 组合物还可含有其他非肽形式的氨基酸, 通常为游离氨基酸或其生理上可接受的盐的游离形式。上述其他氨基酸的量按重量计通常不超过鸟氨酸的量。例如, 存在的其他氨基酸的量按重量计最高达鸟氨酸重量的 20%, 例如为鸟氨酸重量的 5% -20%。可存在于组合物中的上述其他氨基酸包括必需氨基酸和非必需氨基酸。组合物可含有其他支链氨基酸 (BCAA)。BCAA 包括异亮氨酸、缬氨酸和亮氨酸。因此, 本发明的组合物可进一步含有异亮氨酸和 / 或缬氨酸和 / 或亮氨酸。

[0087] 治疗

[0088] 将苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种与鸟氨酸联合给予受试者以预防或延迟肝失代偿或肝性脑病的发病。因此可联合给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸以改善受试者例如在促发事件之后患慢性肝病的受试者的状况。可联合给予苯基乙酸和苯

基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸以缓解受试者的症状,例如与受试者促发事件之后的慢性肝病相关的症状。可联合给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸以对抗或延迟肝失代偿或肝性脑病的发病。

[0089] 可将苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸联合给予受试者以治疗肝性脑病。可联合给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸以改善肝性脑病患者的状况。可联合给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸以缓解与肝性脑病相关的症状。可联合给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸以对抗肝性脑病。可联合给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸以预防具有肝性脑病发作风险的人的初始肝性脑病发作。可联合给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸以减轻具有肝性脑病发作风险的人的初始肝性脑病发作的严重程度。可联合给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸以延迟具有肝性脑病发作风险的人的初始肝性脑病发作。

[0090] 肝失代偿和肝性脑病的发展与“促发事件”(或“急性发病”)有关。这类促发事件包括胃肠出血、感染(脓毒症)、门静脉血栓形成和脱水。这类急性发病可能导致住院。患者可能经受某种这类急性发病或者这类急性发病的组合。

[0091] 根据本发明,联合鸟氨酸与苯基乙酸和/或苯基丁酸来治疗经历过或疑似经历过急性发病的受试者,以预防肝向失代偿状态发展。因此本发明可预防肝失代偿的医学后果,例如肝性脑病。鸟氨酸与苯基乙酸和/或苯基丁酸可用于维持肝功能。因此,使用鸟氨酸和苯基乙酸和/或苯基丁酸可延长肝病患者的寿命。在一个实施方案中,防止了胃肠出血的代谢性后果,例如出血期后的高血氨、低异亮氨酸血症和蛋白质合成减少。

[0092] 通常,对受试者的治疗可在发生或疑似发生促发事件(急性发病)时尽快开始。优选在反复急性发病前就对受试者开始治疗。更优选地,在第一次急性发病后对受试者开始治疗。

[0093] 通常在急性发病开始后随即给予治疗。可在医务人员例如医师、急救医士或护士检测出急性发病或疑似急性发病的症状之后开始治疗。可在受试者住院后立即开始治疗。因此,可在检测出急性发病或疑似急性发病症状后6小时内、3小时内、2小时内或1小时内开始治疗。因此,可在检测出了急性发病或疑似急性发病的症状1至48小时,例如1-36小时或1-24小时后开始对受试者的治疗。

[0094] 可在检测出急性发病或疑似急性发病后,进行最多达8周,例如最多达6周、最多达4周或最多达2周的治疗。因此可在检测出急性发病或疑似急性发病后,进行最多达48小时,例如最多达36小时或最多达24小时的治疗。通常治疗进行到从急性促发事件中明显得到恢复的时候。

[0095] 用鸟氨酸和苯基乙酸和/或苯基丁酸治疗受试者。可以单一的药物形式联合给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸,或者以两种或三种不同药物的形式独立给予。当以组合的药物形式给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸时,可在制好组合物后立即给药,或者可以以组合药物的形式贮藏。

[0096] 当独立地给予鸟氨酸与苯基乙酸和/或苯基丁酸时,可在一段时间内同时或相继给药。可在一段时间内独立地给予两种或三种的药物。

[0097] 当给予两种药物时,可先给予鸟氨酸,然后给予苯基乙酸和苯基丁酸、苯基乙酸或苯基丁酸。或者,可先给予苯基乙酸和苯基丁酸、苯基乙酸或苯基丁酸,然后给予鸟氨酸。在

另一个实施方案中,先联合给予鸟氨酸和苯基乙酸,然后再给予苯基丁酸。或者,先联合给予鸟氨酸和苯基丁酸,然后给予苯基乙酸。在另一个实施方案中,可先给予苯基乙酸,然后联合给予鸟氨酸和苯基丁酸。或者,先给予苯基丁酸,然后联合给予鸟氨酸和苯基乙酸。

[0098] 当给予三种药物时,可在不同的时间分别给予鸟氨酸、苯基乙酸和苯基丁酸。鸟氨酸可最先给予,或其次给予,或在最后给予。当首先给予鸟氨酸时,可其次给予苯基乙酸或苯基丁酸,之后再给予苯基丁酸或苯基乙酸。当其次给予鸟氨酸时,可首先给予苯基乙酸或苯基丁酸,再次再给予苯基丁酸或苯基乙酸。当最后给予鸟氨酸时,可首先给予苯基乙酸或苯基丁酸,之后给予苯基丁酸或苯基乙酸。

[0099] 可在给予第一种药物最长达 5 小时例如最长达 2 小时或最长达 1 小时后给予第二种药物。因此可在给予第一种药物 15 分钟-5 小时后,例如 30 分钟-4 小时或 1 小时-3 小时后给予第二种药物。

[0100] 可在给予第二种药物最长达 5 小时例如最长达 2 小时或最长达 1 小时后给予第三种药物。因此可在给予第二种药物 15 分钟-5 小时后,例如 30 分钟-4 小时或 1 小时-3 小时后,给予第三种药物。

[0101] 可在相同部位或不同部位给予本发明的药物。可通过相同途径或不同途径给予本发明的药物。可通过任何合适的途径给予本发明的药物。优选通过口服、静脉内、胃内、腹膜内或血管内途径给药。例如,当分别给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸时,它们均可口服或它们均可静脉内给药,或者鸟氨酸可口服给药,而苯基乙酸和 / 或苯基丁酸可静脉内给药,或者苯基乙酸和 / 或苯基丁酸可口服给药,而鸟氨酸可静脉内给药。

[0102] 向受试者给予治疗有效量的鸟氨酸、苯基乙酸和 / 或苯基丁酸以及任选的异亮氨酸。鸟氨酸、苯基乙酸和 / 或苯基丁酸以及异亮氨酸的剂量可根据各种参数确定,所述参数例如待治疗的受试者的年龄、体重和病症;肝病的类型和严重程度;给药途径和所需的治疗方案。

[0103] 鸟氨酸的常规剂量、苯基乙酸或苯基丁酸的常规剂量或者异亮氨酸的常规剂量为约 0.02-1.25g/kg 体重,例如 0.1-0.5g/kg 体重,具体根据上述参数而定。因此,鸟氨酸的剂量、苯基乙酸或苯基丁酸的剂量或者异亮氨酸的剂量可为 1-50g,例如 5-30g。鸟氨酸的剂量可为 10 至 30g。异亮氨酸的剂量可为 5-15g。鸟氨酸与苯基乙酸 / 苯基丁酸可以以 10 : 1-1 : 10 的重量比进行给药,例如重量比为 5 : 1-1 : 5 或 2 : 1-1 : 2 或约 1 : 1。医师可针对任意具体的患者确定所需的鸟氨酸与苯基乙酸或苯基丁酸以及任选的异亮氨酸的剂量。

[0104] 可给予单剂量的鸟氨酸和单剂量的苯基乙酸和 / 或苯基丁酸。任选地,还可给予单剂量的异亮氨酸。或者,可给予多剂量例如 2、3、4 或 5 个剂量的鸟氨酸和 / 或苯基乙酸和 / 或苯基丁酸和 / 或任选的异亮氨酸。上述多剂量给药可进行一个月或两周或一周时间。在另一个实施方案中,可每天给予单剂量或多剂量例如 2、3、4 或 5 个剂量的鸟氨酸和 / 或苯基乙酸和 / 或苯基丁酸。

[0105] 如上所述,可向受试者给予其他氨基酸。所述或每种其他氨基酸可与鸟氨酸和 / 或苯基乙酸和 / 或苯基丁酸以同一药物的形式进行给药,或者可独立给药。若进行独立给药,则所述或每种其他氨基酸的给药可在鸟氨酸和 / 或苯基乙酸和 / 或苯基丁酸给药同时进行,或者可在不同的时间例如在给予鸟氨酸和 / 或苯基乙酸和 / 或苯基丁酸最长达 5 小

时、最长达 2 小时或最长达 1 小时之前或之后进行。所述或每种其他氨基酸通常为口服给药或静脉内给药。

[0106] 向受试者给予治疗有效量的所述或每种其他氨基酸。剂量应根据不同的参数例如以上针对鸟氨酸、苯基乙酸和苯基丁酸述及的参数而变化。所述或每种其他氨基酸的常规剂量为 0.02-1.25g/kg 体重,例如 0.1-0.5g/kg 体重。因此所述或每种其他氨基酸的剂量为 1g-50g,例如 5g-30g。

[0107] 可给予单剂量的所述或每种其他氨基酸。或者,可给予多剂量例如 2、3、4 或 5 个剂量。这类多剂量给药可进行一个月或两周或一周。在另一个实施方案中,可每天进行单剂量或多剂量例如 2、3、4 或 5 个剂量的给药。

[0108] 以下实施例对本发明进行说明。

[0109] 实施例 1:硬变患者的嗜中性粒细胞功能发生改变并随肝病加重而恶化

[0110] 测量嗜中性粒细胞吞噬作用和氧化爆发的方法

[0111] 吞噬试验:将肝素化全血与受调理素作用的 FITC 标记的大肠杆菌和 CD16 一起培养。然后用流式细胞术 (FACScan Becton Dickinson) 对细胞进行分析,通过前向角散射和侧向角散射设门,随后基于藻红蛋白 (PE) [Immunotech, Marseille, France] 荧光染料表达对细胞进行评价以识别 CD16 阳性细胞。然后对门内细胞群进行评价以确定 FITC 标记的细菌的存在情况。

[0112] 吞噬爆发:将肝素化的全血与受调理素作用的大肠杆菌悬液一起培养以激发氧化爆发。加入底物溶液以测定二氢罗丹明 (DHR) 123 向荧光源化合物罗丹明 (R) 123 的转化情况。使反应终止并固定,然后与 CD16 抗体一起培养以识别阳性嗜中性粒细胞。然后用流式细胞术进行分析。

[0113] 嗜中性粒细胞的趋化作用:通过改进的 Boyden 小室法,利用白细胞介素 8 作为化学引诱物质以激发化学激活作用,来测量嗜中性粒细胞的趋化作用。

[0114] 患者和方法

[0115] 我们对 30 名硬变患者(酒精性硬变;平均年龄 53.2 岁 (SEM 4.6)) 和 20 名健康志愿者进行了研究。将硬变患者分为叠加性酒精性肝炎 (super imposed alcoholic hepatitis) (AH+) 患者和肝失代偿或肝代偿患者。利用吞噬试验测定吞噬细胞的能力,利用吞噬爆发测定细胞在与大肠杆菌接触时是否能够产生氧化爆发。

[0116] 结果

[0117] 我们观察到来自硬变患者的嗜中性粒细胞吞噬细菌的能力显著下降。我们还发现,在使氧化爆发产生率增加方面,硬变患者对大肠杆菌刺激嗜中性粒细胞的作用产生应答的能力显著下降(图 1)。这种能力下降与肝病的严重程度相关,表明肝病越处于晚期,对感染的产生应答和抵抗的能力就越弱。

[0118] 实施例 2:氨降低嗜中性粒细胞的吞噬能力

[0119] 测量嗜中性粒细胞的吞噬作用和氧化爆发的方法

[0120] 如实施例 1 所述。

[0121] 患者和方法

[0122] 从健康志愿者 (n = 15) 收集血液,将血液与浓度递增的氨一起培养 1 小时。通过吞噬试验和嗜中性粒细胞趋化作用分析测定嗜中性粒细胞吞噬细菌的能力。在嗜中性粒细

胞趋化作用分析中使用 10ng/ml 的 IL-8。

[0123] 结果

[0124] 随着培养的氨的浓度增加,嗜中性粒细胞的吞噬作用(图 2)和嗜中性粒细胞趋化作用(图 3)显著减弱。

[0125] 实施例 3:通过干预手段可以逆转氨对嗜中性粒细胞吞噬作用的影响

[0126] 测量嗜中性粒细胞的吞噬作用和氧化爆发的方法

[0127] 如实施例 1 所述。

[0128] 患者和方法

[0129] 从健康志愿者($n = 15$)收集血液,将血液与氨和选定的氨基酸一起培养 1 小时。通过吞噬试验测定嗜中性粒细胞吞噬细菌的能力。

[0130] 结果

[0131] 我们观察到,氨诱导的嗜中性粒细胞吞噬作用的减弱可被鸟氨酸和谷氨酰胺部分逆转(图 4)。然而,氨与天冬氨酸共培养则使得嗜中性粒细胞吞噬作用恶化,但使用 L- 鸟氨酸 L- 天冬氨酸时可保持不变。

[0132] 实施例 4:模拟胃肠出血使得嗜中性粒细胞趋化作用减弱,可通过给予异亮氨酸使得所述趋化作用的减弱被逆转

[0133] 方法

[0134] 对 10 名[9 名男性和一名女性;平均年龄为 49.6 岁(SEM 9.1);Child-Pugh 平均评分为 7.8(SEM 1.2)]禁食一夜、代谢稳定、经活组织检查证实的肝硬化患者进行研究,所述研究在口服给予 75g 模拟血红蛋白分子(Nutricia, Cuijk, Netherlands)的氨基酸混合物之前以及在给药 2 小时后进行。在另外的 7 名患者[4 名男性和 3 名女性;平均年龄为 51.4 岁(SEM 6.7);Child-Pugh 平均评分为 8.1(SEM 1.4)]中,在给予氨基酸混合物后,2 小时内静脉内给予异亮氨酸(含 40mg/1 异亮氨酸的等渗溶液,速度为 100ml/hr)。测定周围静脉血样的嗜中性粒细胞趋化作用(参见实施例 1 的方法)和血浆氨。

[0135] 结果

[0136] 与年龄匹配的对照(53.3SEM 4.6)相比,这些硬变患者的嗜中性粒细胞的趋化作用明显较低,并且在模拟出血后显著减弱,从 30(± 4.2)减至 8(± 5.4)个细胞/高倍视野($p < 0.0001$)(图 5)。氨的血浆浓度显著增加,从 75.1(± 4.2)增加至 124(± 8.5)($p < 0.001$)。氨浓度的改变与嗜中性粒细胞趋化作用的改变相关($r = 0.65, p < 0.05$)。在模拟出血组观察到的嗜中性粒细胞趋化作用的减弱在使用异亮氨酸治疗的患者组中被消除(25.4(± 6.0)细胞/高倍视野)。

[0137] 实施例 5:模拟出血可减少蛋白质的合成并不适当地刺激异亮氨酸氧化

[0138] 方法

[0139] 招募 5 名禁食一夜的肝硬化患者。收集血样并采集呼出气样本,然后开始输注稳定的同位素以测定背景同位素的富集程度。然后,患者接受预先准备的[1-¹³C]-异亮氨酸的连续静脉输注(1mg/kg bw/h)直至试验结束($t = 480\text{min}$)。

[0140] 结果

[0141] 图 6 显示输注盐水(黑色条柱)和氨基酸(棕色条柱)最后一小时内的异亮氨酸平均全身表观率(Wb Ra)和异亮氨酸氧化作用(值以平均值 $\pm$ SEM 表示;# 表示 $p < 0.05$)。

硬变患者的上消化道出血导致了异亮氨酸的减少和全身蛋白质合成的显著减少。尽管异亮氨酸浓度显著降低,但用于氧化作用的异亮氨酸流通部分在模拟出血后并未发生改变,这表明出现了 BCAA 拮抗作用。

[0142] 实施例 6 :在模拟出血期间给予异亮氨酸增强了蛋白质合成但不降低氨浓度

[0143] 方法

[0144] 对 16 名代谢稳定、经活组织检查证实的肝硬化患者进行研究。在 4 小时的模拟出血期间,随机对患者补充异亮氨酸 (40mg/L 溶液 ;50ml/hr) 或安慰剂。氨和 (通过预先地连续输注 L-[环 -²H₅] 苯丙氨酸、L-[环 -²H₄]- 酪氨酸和 L-[环 -²H₂]- 酪氨酸来测量的) 蛋白质合成。

[0145] 结果

[0146] 结果表明在肝硬化患者模拟出血期间输注亮氨酸,使得肝和肌肉的遭损害的蛋白质合成得到恢复,导致了这些器官的净合成代谢状态 (表 1)。两组的氨浓度显著增加,但与给予异亮氨酸和给予安慰剂的组间并无显著差异 (图 7)。

[0147] 实施例 7 :晚期硬变患者输注 L- 鸟氨酸 L- 天冬氨酸后的天冬氨酸累积

[0148] 方法

[0149] 用 L- 鸟氨酸 L- 天冬氨酸,以 40g/ 天对 5 名等待肝移植的晚期硬变患者 (年龄 :59 ;3 名男性,Child C 级疾病,严重腹水,肌酐酞 102 μ mol/L) 进行治疗。

[0150] 结果

[0151] 天冬氨酸浓度在 3 天时间内显著递增,增至基础值的 5 倍 (表 2)。

[0152] 表 2

[0153]

	治疗前	第 1 天	第 2 天	第 3 天
天冬氨酸 (μ mol/L)	72(11.8)	178(23.2)	289(27.1)	354(31.1)

[0154] 表 1

[0155] 利用 Phe 模型在 t = 0 小时和研究结束时测定的蛋白质动力学

[0156]

	时间	蛋白质合成	P	蛋白质分解	P	净平衡	P
肝 SB- 盐水	0	415 $\pm$ 120		263 $\pm$ 50		152 $\pm$ 76	
	结束时	274 $\pm$ 250	0.445	108 $\pm$ 162	0.366	166 $\pm$ 231	0.836
	0	218 $\pm$ 37		109 $\pm$ 25		98 $\pm$ 33	
	结束时	839 $\pm$ 221	0.038	157 $\pm$ 204	0.412	682 $\pm$ 165	0.010
小腿 SB- 盐水	0	117 $\pm$ 52		137 $\pm$ 51		-20 $\pm$ 19	
	结束时	372 $\pm$ 211	0.189	288 $\pm$ 175	0.232	87 $\pm$ 140	0.694
	0	-31 $\pm$ 201		196 $\pm$ 61		-185 $\pm$ 152	
	结束时	377 $\pm$ 135	0.209	159 $\pm$ 100	0.535	261 $\pm$ 102	0.005

[0157] 数据为平均值 $\pm$ SEM nmol/kg 体细胞质量 /min。结束时的数值代表氨基酸输注最后一小时的平均值。对肝和肾的蛋白质合成的数据进行羟基化校正 (见方法)。统计 :p 值反映进行 Mann-Whitney U 检验的组间差异 ;发现组间无显著性差异。

[0158] 实施例 8 :LOLA 的给药降低氨浓度但可使氨再生**[0159] 患者和方法**

[0160] 对 8 名硬变患者 (年龄 56 (5.6), 5M, ALD-6 ; 2 级 HE : 4 例 ; 3-4 级 HE : 4 例) 进行 LOLA 输注 (40g, 8 小时) 治疗。采集血样以对氨和谷氨酰胺进行测量。

[0161] 结果

[0162] 结果表明, 给予 LOLA 使得氨浓度显著下降, 同时伴随有谷氨酰胺浓度升高 (图 8)。这种氨的减少对 HE 的严重程度具有有益作用。然而, 当停止 LOLA 给药时, 循环氨水平出现反弹升高, 导致已得到改善的 6 名患者中的 3 名患者的 HE 复发。

[0163] 实施例 9 :主动除去谷氨酰胺防止了氨浓度再次升高**[0164] 患者和方法**

[0165] 对进行血液滤过 (heamofiltration (CVVH)) 的 3 名患者 (年龄 45 (4.1) 2M, ALD, HE 全部为 3 级, HRS 全部为 3) 进行 LOLA 输注 (40g, 8 小时) 治疗。采集血样以对氨和谷氨酰胺进行测量。

[0166] 结果

[0167] 结果表明, LOLA 使得氨浓度降低, 但加入透析阻止了谷氨酰胺浓度同时升高 (图 9)。因此, 我们认为氨浓度是持续降低的。

[0168] 实施例 10 :苯基乙酸与谷氨酰胺结合, 从而生成可分泌的化合物并且防止了氨再次升高**[0169] 患者和方法**

[0170] 用 LOLA 和苯基乙酸 (40g/ 天, 8 小时) 对 6 名急性肝衰竭 (5 例非甲非乙型肝炎) 和严重肝性脑病 (3-4 级) 的患者进行治疗。

[0171] 结果

[0172] 联合治疗并未使得谷氨酰胺浓度显著增高, 但使得氨水平下降 (图 10)。未观察到氨反弹性增加。

[0173] 实施例 11 :鸟氨酸和苯基丁酸对肝性脑病病人的作用**[0174] 患者**

[0175] 1. 分组 :每组 3 名患者, 总共 12 名。

[0176] 2. 选入标准

[0177] -18-80 岁的成年患者, - 通过组织学或临床标准证实肝硬化

[0178] -C 型 HE, - 氨浓度 $> 80 \mu\text{mol/L}$, 告知同意 / 赞成

[0179] 3. 排除标准

[0180] - 其他并发神经性疾病, - 使用另一种特定的降氨药物, - 需要机械通气和镇静的呼吸衰竭, - 未控制住的胃肠出血, - 需要 inotrope 的低血压, 明显肾衰竭 (肌酐 $> 2\text{mg/dl}$), 血液透析, - 体外肝支持, 已知的对任何研究药物的高敏感性, - 妊娠。

[0181] 对精神状态的评价**[0182] 肝性脑病分级 (West Haven 标准)**

[0183]

0 级 (最低程度 HE)

正常精神状态

(心理学测验上的一种或多种可计量的异常)

[0184]

1 级	轻度意识缺乏 欣快或焦虑 注意力广度缩短 加法行为受损
2 级	嗜睡或情感淡漠 对时间或地点的最低定向障碍 轻微人格改变 行为不当 减法行为受损
3 级	嗜眠性半木僵，但对言语刺激有反应 意识错乱 严重定向障碍
4 级	昏迷（对言语或有害刺激无反应）

[0185] 方法

[0186] 在开放的标记性研究中，我们选入了 8 名患有硬变和高血氨的患者。根据肝病的严重性对他们进行匹配（见表 3）。采用以下方案之一在 3 天时间内对他们进行治疗，进行 5 天时间的观察。研究组别为：

[0187] (i) 安慰剂：5%葡萄糖，4 小时；

[0188] (ii) 单用鸟氨酸：20g 于 500ml 5%葡萄糖中，0800 时至 1200 时；

[0189] (iii) 苯基丁酸：每天两次，每次 10g，口服（0800 时和 1600 时）；和

[0190] (iv) 鸟氨酸 + 苯基丁酸：20g 于 500ml 5%葡萄糖中，0800 时至 1200 时 + 每天两次，每次 10g，口服（0800 时和 1600 时）。

[0191] 患者从午夜 0000 时至上午 0800 禁食一夜。按 25KCal/Kg 向他们提供胃内膳食，从 0800 开始至午夜结束，其中 25KCal/Kg 膳食中含有 1g/Kg 的蛋白质膳食。在 0730 时以及之后的 1800 时采集血样，以便对氨和谷氨酰胺进行测量。密切监测对患者的副作用。各组的药物均耐受良好，未观察到不良事件。

[0192] 表 3 患者人口统计

[0193]

	安慰剂	单用鸟氨酸	单用苯基丁酸	OP
年龄	P1: 47 P2: 57	P3: 46 P4: 40	P5: 56 P6: 48	P7: 52 P8: 52
性别	P1: M P2: M	P3: F P4: F	P5: F P6: M	P7: M P8: F
肝病病因学	P1: HCV P2: HBV	P3: HBV P4: NASH	P5: NASH P6: HBV	P7: HBV P8: HBV
肝病严重性 (Pugh 评分)	P1: 9 P2: 12	P3: 13 P4: 13	P5: 14 P6: 13	P7: 14 P8: 12
促发因素	P1: 感染 P2: 感染	P3: SBP P4: 感染	P5: SBP P6: ? 感染	P7: SBP P8: 感染
HE 严重性 (West-Haven 标准)	P1: 2 P2: 3	P3: 3 P4: 3	P5: 3 P6: 3	P7: 3 P8: 3
HE 严重性 (Glasgow 昏迷评分)	P1: 9 P2: 8	P3: 8 P4: 8	P5: 9 P6: 10	P7: 9 P8: 9
其他器官衰竭	P1: 无 P2: 低血压	P3: 肾前性, 低血压 P4: 低血压	P5: 无 P6: 肾前性	P7: 无 P8: 无
死亡(D)/存活(A)	P1: A P2: A	P3: D P4: A	P5: A P6: A	P7: A P8: A
并发症	P1: 感染, SBP P2: 感染, 静脉曲张性出血	P3: HRS P4: 复发性感染	P5: 脓毒症, ICU P6: 复发性 SBP	P7: 无 P8: 出血, 第14天

[0194] SBP :特发性细菌性腹膜炎,非酒精性脂肪肝炎, ICU :必要的重症监护支持, HRS :肝肾综合征

[0195] 结果

[0196] 图 11 表明,安慰剂组在治疗期间的平均氨水平基本上保持不变。L- 鸟氨酸组和苯基丁酸组中,氨浓度相对基线值有所升高。在 L- 鸟氨酸和苯基丁酸一起治疗的组,氨显著减少。OP 治疗的动物中,除了氨浓度降低外,餐后氨增加的程度也降低了。到第 3 天,OP 组的两名患者的肝性脑病评分得到了两级改善,但在任一其他六名患者中未观察到此现象。

[0197] 图 12 表明,OP 组在治疗期间,虽然有氨的减少,但平均谷氨酰胺水平基本上保持不变。苯基丁酸组中,谷氨酰胺减少,这很可能是有害的。在 L- 鸟氨酸组和安慰剂组中,谷氨酰胺浓度增加,在餐后状态中这一现象得到显著加强。

[0198] 图 13 表示用安慰剂、O、P 和 OP 治疗的组的精神状态的变化。

[0199] 实施例 12 :鸟氨酸、苯基丁酸和异亮氨酸对肝性脑病病人的作用

[0200] 患者

[0201] 1. 分组 :每组 2 名患者,总共 6 名。

[0202] 2. 选入标准

[0203] -18-80 岁的成年患者,通过组织学或临床标准证实肝硬化,Child B 或 C,最近有因静脉曲张的胃肠出血(显现后 6 小时内),告知同意 / 赞成

[0204] 3. 排除标准

[0205] - 其他并发神经性疾病, 使用另一种特定的降氨药物, 需要机械通气和镇静的呼吸衰竭, 未控制住的胃肠出血, 需要 inotrope 的低血压, 明显肾衰竭 (肌酸酐 $> 2\text{mg/dl}$), 血液透析, 体外肝支持, 已知的对任何研究药物的高敏感性, 妊娠 / 哺乳。

[0206] 方法

[0207] 在开放的标记性研究中, 我们选入了 6 名硬变患者, 且这些患者因治疗静脉曲张性出血而被接受。根据肝病的严重性对他们进行匹配 (见表 4)。采用以下方案之一在 3 天时间内对他们进行治疗, 进行 5 天时间的观察。研究组别为:

[0208] i. 安慰剂: 5% 葡萄糖, 4 小时 (250ml)

[0209] ii. 单用异亮氨酸: 10gm 溶于 250ml 5% 葡萄糖, 分成两个剂量, 2 小时内静脉内注射

[0210] iii. 异亮氨酸 + 鸟氨酸 + 苯基丁酸: 异亮氨酸: 10gm 溶于 250ml 5% 葡萄糖, 分成两个剂量, 2 小时内静脉内注射; 鸟氨酸: 20g 于 250ml 5% 葡萄糖中 ($t = 0, 24, 48\text{hr}$); 苯基丁酸: 每天两次, 每次 10g, 口服 ($t = 0, 12, 24, 36, 48\text{hr}$)

[0211] 患者从午夜 0000 时至上午 0800 时禁食一夜。按 25KCal/Kg 向他们提供胃内膳食, 从 0800 开始至午夜结束, 其中 25KCal/Kg 膳食中含有 1g/Kg 的蛋白质膳食。在 0730 时以及之后的 1800 时采集血样, 以便对氨和谷氨酰胺进行测量。密切监测患者的副作用。各组的药物均耐受良好, 未观察到不良事件。患者由于最初进行了内镜检查术而接受了镇静剂, 因此精神状态评价不能用于解释。安慰剂组和异亮氨酸组各一名患者因多器官衰竭而在医院死亡。其余患者存活。

[0212] 表 4

[0213]

	安慰剂	单用异亮氨酸	OIP
年龄	P1: 43 P2: 62	P3: 57 P4: 42	P5: 43 P6: 45
性别	P1: M P2: M	P3: F P4: M	P5: M P6: M
肝病病因学	P1: ALD P2: HCV	P3: HBV P4: ALD	P5: HBV P6: NASH
肝病严重性 (Pugh 评分)	P1: 13 P2: 14	P3: 13 P4: 11	P5: 14 P6: 10
HE 严重性 (West-Haven 标准)	P1: 2 P2: 3	P3: 2 P4: 1	P5: 2 P6: 2
估计的失血 (u)	P1: 9 P2: 10	P3: 7 P4: 8	P5: 7 P6: 10
死亡(D)/存活(A)	P1: D P2: A	P3: A P4: D	P5: A P6: A
并发症	P1: 感染, 再次出血 P2: 严重肝性脑病	P3: HRS P4: 复发感染	P5: 胸腔感染 P6: 无

[0214] SBP :特发性细菌性腹膜炎,非酒精性脂肪肝炎, ICU :必要的重症监护支持, HRS :肝肾综合征

[0215] 结果

[0216] 图 14 表明安慰剂组和异亮氨酸组的氨浓度无显著变化。OIP 治疗组的氨浓度显著减少。

[0217] 图 15 表明,给予异亮氨酸、安慰剂或 OIP 并未显著改变谷氨酰胺水平。氨浓度仅在 OIP 组有显著降低。

[0218] 图 16 表明 OIP 作用的另一种方式是通过减少氨源氨基酸即甘氨酸。仅在 OIP 组观察到甘氨酸的显著减少。

[0219] 图 17 表明各组开始的异亮氨酸水平均很低,但异亮氨酸治疗组的该水平增至正常值的两倍。安慰剂组的浓度保持低水平并且未变化。

[0220] 图 18 表明,治疗过程中患者的鸟氨酸水平的变化示出了鸟氨酸浓度显著持续性升高并在停药后所述浓度显著降至基础值,由此表明了不同组织中的吸收。

[0221] 实施例 13 :鸟氨酸和苯基丁酸对胆管结扎的大鼠的作用

[0222] 方法

[0223] 通过胆管结扎 (BDL) 诱导硬变

[0224] 在本方法中使用雄性 SD 大鼠 (Sprague-Dawley rat) (200-250g)。麻醉后,进行正中线剖腹术,暴露胆管,用 4.0 的丝线三重结扎,在第二结扎处和第三结扎处间切断。用可吸收缝线对伤口进行分层缝合,使动物在安静的室内恢复,之后放回动物饲养室。将动物置于常温 (20℃) 下,进行 12 小时的光照 / 避光循环,并使其随意接近水和标准的啮齿动物食物。

[0225] BDL (或假手术) 五周后,将给予动物的啮齿动物食物转换为完全液体食物 (Liquidiet, Bio-Serv, Frenchtown NJ, USA),所述完全液体食物中加入了模拟血红蛋白组合物的氨基酸混合物 (2.8g/Kg/天, Nutricia Cuijk, The Netherlands, ProdUct No. 24143)。在第 6 周于麻醉状态下,插入右侧颈动脉导管,并用其反复采集血样。此步骤之后收集基线样品,然后通过 IP 注射给予所研究的制剂。研究组为:BDL 对照 + 盐水 (n = 5)、BDL+IP 鸟氨酸 (0.22g/Kg, n = 6) 盐水、BDL+IP 苯基丁酸 (0.3g/Kg, n = 7) 盐水、BDL+IP OP 盐水 (0.22g/Kg/0.3g/Kg, n = 7)。

[0226] 将血样收集至预冷的肝素化试管中,在处理前置于冰上保存。离心 (3,000rpm, 10min) 后收集血浆,在分析前于 -80℃ 保存。

[0227] 利用 COBAS Mira S,按照厂商说明书测量氨、葡萄糖、乳酸盐和脲。用荧光检测的 HPLC 对氨基酸进行定量。

[0228] 结果

[0229] 与健康对照 ($25.6 \pm 2 \mu\text{mol/L}$, $p < 0.001$, 数据未显示) 相比,在硬变的胆管结扎的大鼠模型 ($205 \pm 11 \mu\text{mol/L}$, 平均值 $\pm$ SEM) 中,动脉血浆氨水平显著升高。在该模型中,我们发现在盐水治疗的安慰剂组中,动脉氨水平在三小时内未改变。

[0230] 图 19 表示 BDL 硬变大鼠在 IP 注射盐水 (BDL 对照, n = 5)、鸟氨酸 (Orn, 0.22g/Kg, n = 6)、苯基丁酸 (PB, 0.3g/Kg, n = 7) 和鸟氨酸苯基丁酸 (OP, 0.22g/Kg+0.3g/Kg, n = 7) 后的动脉血浆氨水平的变化。* 表明在 3 小时时 OP 与 Orn 比较 $p < 0.05$ (双因素方差

分析)。

[0231] 该图表明,在鸟氨酸治疗的动物中检测到氨浓度有少许降低,但未发现它与安慰剂有差异。在苯基丁酸治疗组中,发现在1小时后血浆氨显著增加(与其他所有组相比, $p < 0.01$),但发现这种差异在3小时时间点时变小。此结果与苯基丁酸(苯基乙酸)只对谷氨酰胺浓度升高的患者有效的假说是吻合的。在未给予鸟氨酸(可代谢形成谷氨酰胺)的动物中,单纯的P的作用是不想要的,也是潜在有害的。在鸟氨酸+苯基丁酸(OP)的治疗组中,观察到了氨水平的显著降低。在这些动物中,测量到在研究的三小时内氨持续减少,在研究结束时发现其水平显著低于单用鸟氨酸的组的水平($p < 0.05$)。

[0232] 上述结果清楚地证明了,在减少血浆氨方面,OP联合比单用O或P效力更强。而且,单用P治疗的动物中,升高的血浆氨水平可能是有害的。

[0233] 我们用一系列样品对IP注射O或OP后鸟氨酸被吸收进入血流的情况进行了检测。图20表示补充组的动脉鸟氨酸浓度。可清楚地看出,IP注射后1小时,两组的血浆鸟氨酸浓度显著升高,随后又在3小时降低,这是由于该鸟氨酸在体内被代谢。在任何时间点,均未发现这些组之间的血浆鸟氨酸浓度有显著差异。

[0234] 这一发现很重要,因为它证实了选定的给药方法可有效地在这些动物体内递送鸟氨酸。而且,快速吸收和所观察到的血浆中的水平降低表明该氨基酸正发生主动代谢。

[0235] 实施例14:鸟氨酸、苯基丁酸和异亮氨酸对胆管结扎的大鼠的作用

[0236] 方法

[0237] 在本方法中使用雄性SD大鼠(200-250g)。将动物处死前48hr时将给予动物的标准啮齿动物食物转换为完全液体食物(Liquidiet, Bio-Serv, Frenchtown NJ, USA),所述完全液体食物中加入了模拟血红蛋白组合物的氨基酸混合物(2.8g/Kg, Nutricia Cuijk, The Netherlands, Product No. 24143)。处死前24小时,通过IP注射半乳糖胺(1g/Kg, Sigma, Poole UK)盐水诱导急性肝衰竭(ALF)(每组 $n = 5$)。将动物处死前3小时,用OIP(鸟氨酸0.22g/Kg, 异亮氨酸0.25g/Kg, 苯基丁酸0.3g/Kg, 于盐水中IP)制剂或者盐水对照治疗。在实验终止时,将动脉血收集至预冷的肝素化试管中,在处理前置于冰上保存。如上所述收集血浆并保存。如上所述测定氨。

[0238] 结果

[0239] 与安慰剂对照相比,OIP治疗急性肝衰竭大鼠的动脉氨水平显著下降(图21)。本研究是为了测试异亮氨酸与鸟氨酸和苯基丁酸(苯基乙酸)联合是否能有效减少血浆氨。先前已经在对人类的研究中证实,单用异亮氨酸并不影响氨水平,但它与O和P联合的有效性之前并未测试过。

[0240] 图21表示用盐水安慰剂(ALF)和OIP治疗(ALF+OIP)的高血氨急性肝衰竭模型中的动脉血浆氨水平。这两组间存在 $p < 0.01$ 的显著性水平(T检验)。

[0241] 该结果支持了异亮氨酸与鸟氨酸和苯基丁酸联合可有效降低氨水平的假说。这是异亮氨酸除了前文所述的对于蛋白质合成的有益效果之外的又一有益效果。

[0242] 实施例15:鸟氨酸和苯基丁酸对血行阻断的猪模型的作用

[0243] 方法

[0244] 将5头猪随机分为4组:急性肝衰竭(ALF)+安慰剂+安慰剂($n = 2$)、ALF+鸟氨酸+安慰剂、ALF+苯基丁酸+安慰剂、ALF+鸟氨酸和苯基丁酸。将导管插入猪的股动脉和

股静脉、门静脉、肾静脉和肺动脉。在开始安慰剂或治疗剂输注前 1 小时开始实验。

[0245] 1. 安慰剂 :3 小时内输注 5% 葡萄糖,口服水安慰剂

[0246] 2. 单用鸟氨酸 :0.3g/Kg,5% 葡萄糖,3 小时内血管内滴注

[0247] 3. 苯基丁酸 :0.3g/Kg,5% 葡萄糖,3 小时内胃内进食

[0248] 鸟氨酸 + 苯基丁酸 :0.3g/Kg,5% 葡萄糖,3 小时内血管内滴注,0.3g/Kg 5% 葡萄糖,3 小时内胃内进食。

[0249] 通过在时间 = 0hr 时的门静脉与下腔静脉的接合,以及随后的肝动脉结扎(血行阻断)来诱导 ALF;时间 = +2hr 时停止输注,时间 = 8hr 时停止实验。在时间 = 0、1、3、5、7 和 9hr 时收集血样和尿样,以便测量局部氨和氨基酸的变化。在实验结束时,取额皮质部分以测量脑积水。

[0250] 结果

[0251] 输注鸟氨酸后产生细胞内谷氨酸以及同时胃内提供苯基乙酸的结果显示,在该肝衰竭激变模型中,整体氨水平和对谷氨酰胺的利用情况明显发生变化。

[0252] 安慰剂治疗的动物中,自血行阻断后,动脉氨浓度随时间持续升高(图 22),其中有一些是肌肉产生的(图 23),而大量的氨则来自消化道(图 24)。该动物表明了肌肉释放的谷氨酰胺较少(图 25)而通过消化道吸收的谷氨酰胺较显著(图 26)。

[0253] 在单独用鸟氨酸治疗的动物中,早期的氨升高起初被抑制,但之后它在实验结束时升至最高(图 22)。在该动物中,肌肉对氨为净吸收(图 24),与安慰剂治疗的动物相比,从肌肉释放的谷氨酰胺的量基本相当(图 25),而消化道对谷氨酰胺的吸收增加(图 26)。

[0254] 单用苯基丁酸也表现出动脉氨水平的初始抑制,但该水平很快升至与单用鸟氨酸在实验结束时的相当的水平(图 22),并且肌肉对氨的吸收基本上无变化(图 23),但消化道产生的氨较显著(图 24)。有意思的是,与安慰剂治疗的动物相比,单用苯基丁酸的治疗中,肌肉对谷氨酰胺为净移除,而该治疗对消化道的谷氨酰胺的吸收无明显影响(图 26)。

[0255] 鸟氨酸和苯基丁酸联用对动脉氨水平影响最大,与所有其他动物相比,它使得在实验结束时的循环水平显著降低(图 22)。在该动物中,肌肉将氨从血液中主动去除,并且消化道产生的氨显著减少(图 24)。有意思的是,注意到与安慰剂治疗和单用鸟氨酸治疗的动物相比,肌肉释放的谷氨酰胺增加(图 25)。虽然在肌肉中产生的谷氨酰胺增多,但消化道对谷氨酰胺的吸收显著减少(图 26)。

[0256] 如图 27 所示,证实了在鸟氨酸治疗的动物中,鸟氨酸的循环水平升高。

[0257] 血行阻断和治疗干预对动脉谷氨酰胺的影响如图 28 所示。在鸟氨酸治疗的动物中,谷氨酰胺的循环水平升高,这一现象可通过联合给予苯基乙酸得到改善。一个有趣的发现是,在鸟氨酸和苯基丁酸联合治疗的动物中,动脉甘氨酸水平得到显著改善(图 29)。

[0258] 在实验结束时,取脑额皮质,并对脑积水含量进行测量(图 30)。

[0259] 一位独立的病理学家对这些实验动物的脑的细胞解剖学作了报道。对他的报道概括如下:

[0260] ALF:微血管血管周围水肿,周围有囊泡。囊泡周围的神经元坏死性改变。

[0261] ALF+O+P:微血管血管周围水肿,周围有囊泡(较无任何治疗 ALF 的程度轻)。细胞内水肿。

[0262] 假手术:脑组织超微结构改变最小=正常脑组织。

[0263] 结论

[0264] 本发明人发现,对与慢性肝病相关的急性发病的一些症状的模拟例如提高氨浓度或模拟胃肠出血,可导致嗜中性粒细胞功能减弱,这种减弱可被鸟氨酸或异亮氨酸部分逆转。通过鸟氨酸和异亮氨酸联合对嗜中性粒细胞功能的补救在预防脓毒症中具有重要作用,而所述脓毒症是肝失代偿进程中的常见促发因素。

[0265] 此外,发明人还发现,在模拟胃肠出血后,异亮氨酸对氨浓度的升高无影响。因此,氨水平不受影响的结果与下述假说相反,所述假说为在给予异亮氨酸后,由于刺激蛋白质合成,氨水平将降低。因此,联合使用异亮氨酸和鸟氨酸是特别有利的,这种使用已知可降低氨水平。

[0266] 因此,给予鸟氨酸和异亮氨酸可防止胃肠出血在代谢上的后果。氨水平的升高被抑制,异亮氨酸的缺乏得到弥补,嗜中性粒细胞功能得到补救。因此联合使用鸟氨酸和异亮氨酸提供了一种对促发事件后的患者进行治疗的新方法以预防肝失代偿的发生。

[0267] 发明人还发现,在肝性脑病患者中用来减少氨的 L- 鸟氨酸 L- 天冬氨酸 (LOLA),并不逆转氨对嗜中性粒细胞功能的影响。因此,单用鸟氨酸比使用 LOLA 更为有利,因为鸟氨酸即可减少氨又可补救嗜中性粒细胞的功能。另外,LOLA 的天冬氨酸组分也会在体内蓄积。天冬氨酸的这种蓄积实际上可能对患者是有害的,因为天冬氨酸使得氨对嗜中性粒细胞功能的影响恶化,进一步减弱嗜中性粒细胞的功能。因此,预防或延迟肝失代偿的发作可通过联合使用鸟氨酸和异亮氨酸来实现,优选地不给予天冬氨酸。

[0268] 另外,发明人还发现用 L- 鸟氨酸 L- 天冬氨酸 (LOLA) 治疗肝性脑病 (HE) 患者,可降低氨水平,从而升高了谷氨酰胺水平。然而,谷氨酰胺只是暂时的氨缓冲剂,因为它可在肾和小肠中进行再循环并重新产生氨。因此单用 LOLA 治疗可导致氨水平再次升高,进一步加重肝性脑病的病状。

[0269] 对尿素循环障碍的儿童使用苯基乙酸或苯基丁酸可降低谷氨酰胺的异常高水平。相比而言,HE 患者具有正常的谷氨酰胺水平,但除了如实施例 1 所示用 LOLA 对他们进行治疗以外,所述 LOLA 降低氨水平但增高谷氨酰胺水平。因此使用苯基乙酸和 / 或苯基丁酸可去除谷氨酰胺,从而预防 HE 患者的氨水平再次升高。

[0270] 所以,可通过联合给予苯基乙酸和苯基丁酸中的至少一种以及鸟氨酸,来实现对肝性脑病的改善性治疗,优选地不给予天冬氨酸。

[0271] 我们在硬变动物模型以及硬变病人中的广泛研究支持了这样一种观点,即硬变患者中清除氨的主要器官是肌肉,在将氨转变为谷氨酰胺的反应中,利用了谷氨酸。在肝衰竭中,负责该反应的酶谷氨酰胺合成酶被诱导,谷氨酸的供应会增强氨解毒作用。

[0272] 谷氨酸的前体鸟氨酸,通过转化成谷氨酰胺而对氨进行解毒。然而,我们的初步研究表明这种谷氨酰胺可使氨再循环和再生。我们的发明提供了一种新方法,该方法不仅对把氨转化为谷氨酰胺进行解毒,还清除了产生的多余的谷氨酰胺。因此,OP 比单用其中一种更为显著地明显减小硬变和高血氨患者的氨浓度。该作用显然是协同作用而非加合作用。此外,餐后的氨增加可通过给予 OP 而消除。这就使得可向失代偿的硬变患者提供富含蛋白质的膳食,且无高血氨风险。氨的减少与精神状态的改善相关。它可通过防止谷氨酰胺的增加来减小氨浓度来实现。这与一种假说是一致的,所述假说即为在肌肉中鸟氨酸促使产生谷氨酰胺 (由此捕获一分子的氨),但该谷氨酰胺被排出 (可能以苯基乙酸的加合物形

式),以防止全身性的谷氨酰胺升高,由此防止了反弹性的高血氨。

[0273] 苯基乙酸使得在呈现出尿素循环障碍的高血氨婴儿中的氨减少这一确证知识证实了氨被捕获转变成谷氨酰胺,谷氨酰胺被运至肾从而以苯基乙酸谷氨酰胺加成物形式排出。这些婴儿表现出高血氨,并且很重要的一点是表现出高谷氨酰胺。相反,硬变患者表现出高血氨和正常至较低的谷氨酰胺。上述的猪模型在肝被隔离后谷氨酰胺未升高,而氨水平显著增高。

[0274] 单用鸟氨酸治疗可增加血液谷氨酰胺,而氨水平不受影响。单用苯基丁酸少量增加谷氨酰胺,并且对氨水平也没有显著影响。截然不同的是,在血氨升高的激变模型中,联用鸟氨酸和苯基丁酸(OP)使得循环氨显著减少,并改善了在单用鸟氨酸时所观察到的谷氨酰胺的增加。甘氨酸——一种产生氨的氨基酸——在所有动物中均增加,但仅在OP治疗的动物中,该氨基酸的增加基本上被抑制,由此显示出这种形式的干预的额外益处。氨升高的确定后果为由于脑中水含量增加所引起的脑肿胀。来自单用鸟氨酸治疗的猪的脑显示,水含量显著增加,而鸟氨酸和苯基丁酸联合则减少脑的水含量。在组织学上,与安慰剂治疗的动物相比,鸟氨酸和苯基丁酸联合治疗的动物的脑的显微结构损伤比较不明显。

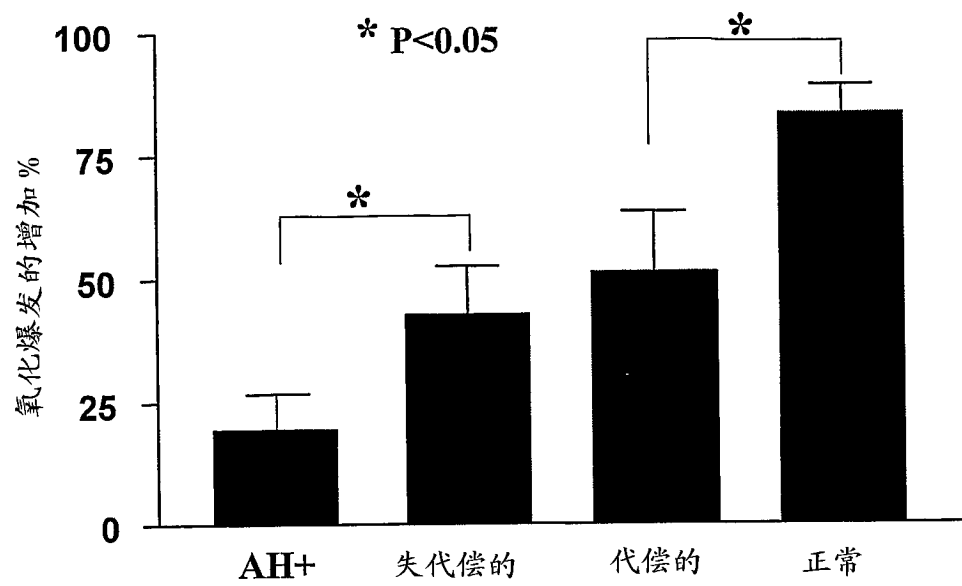


图 1

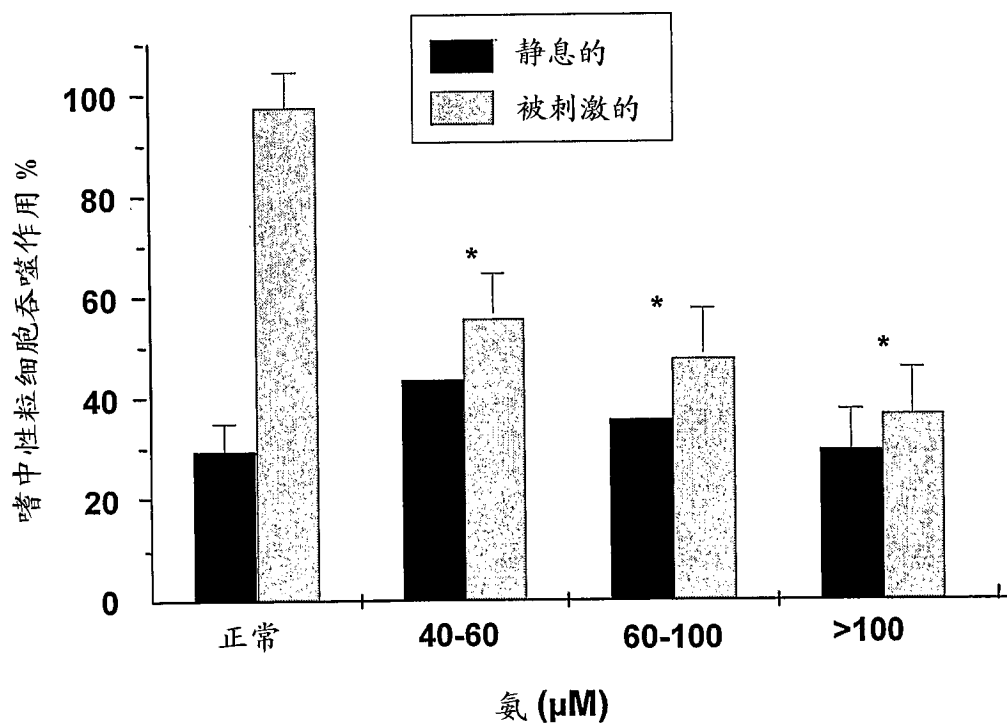


图 2

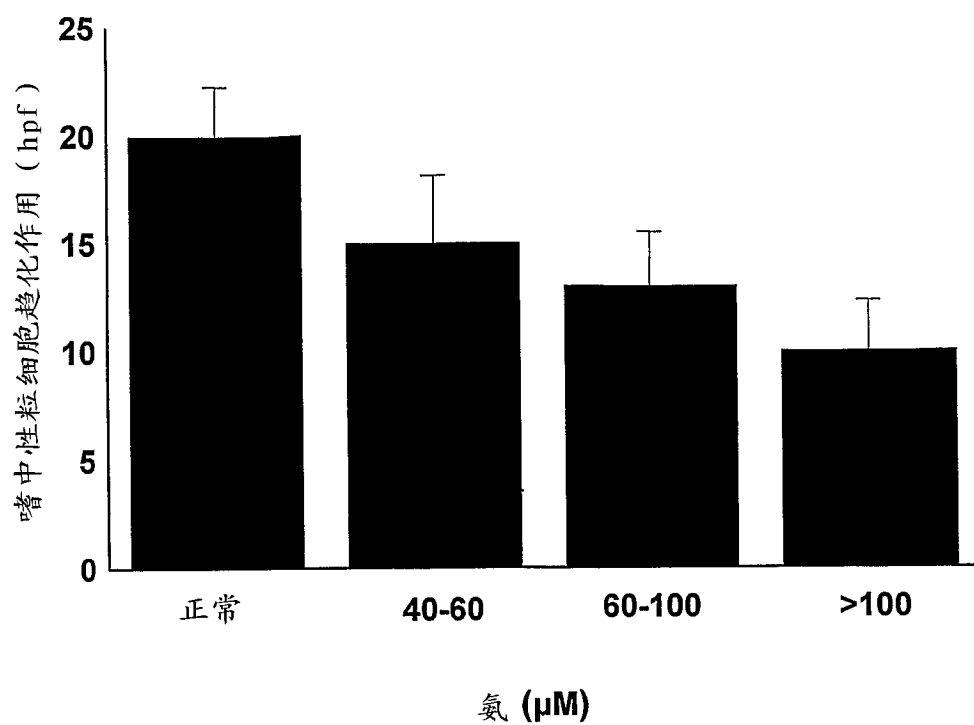


图 3

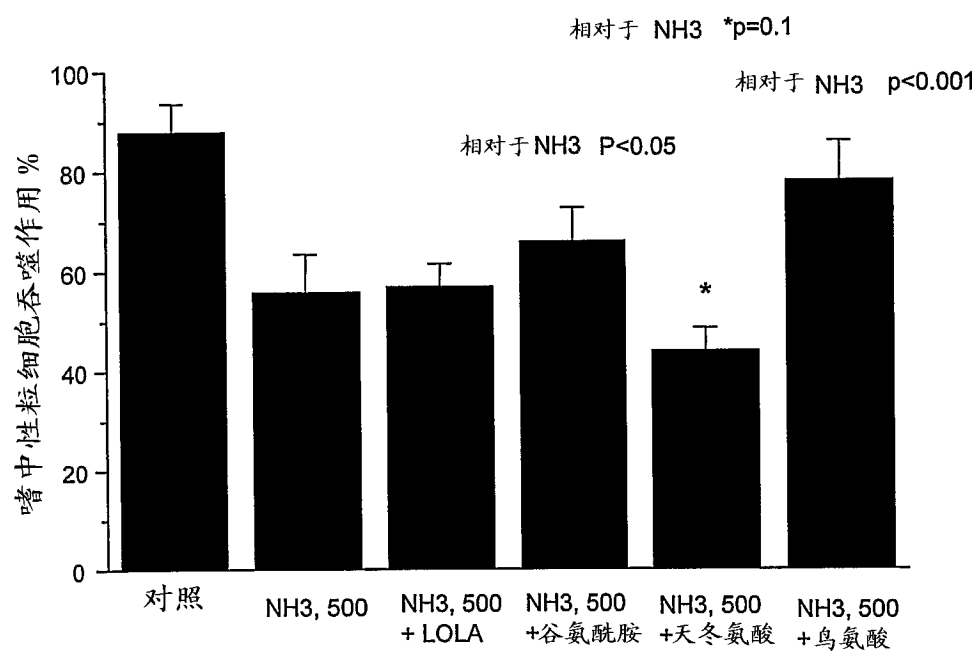


图 4

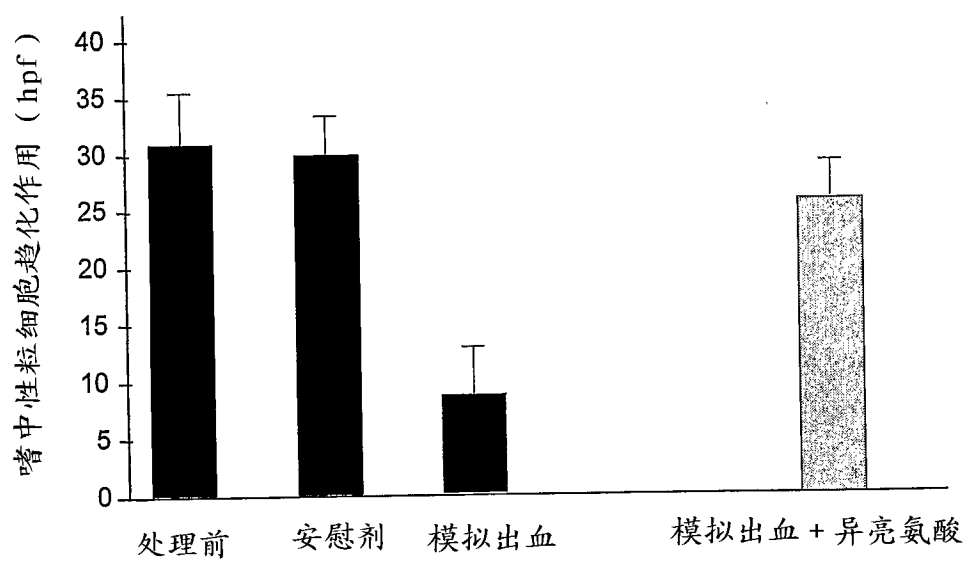


图 5

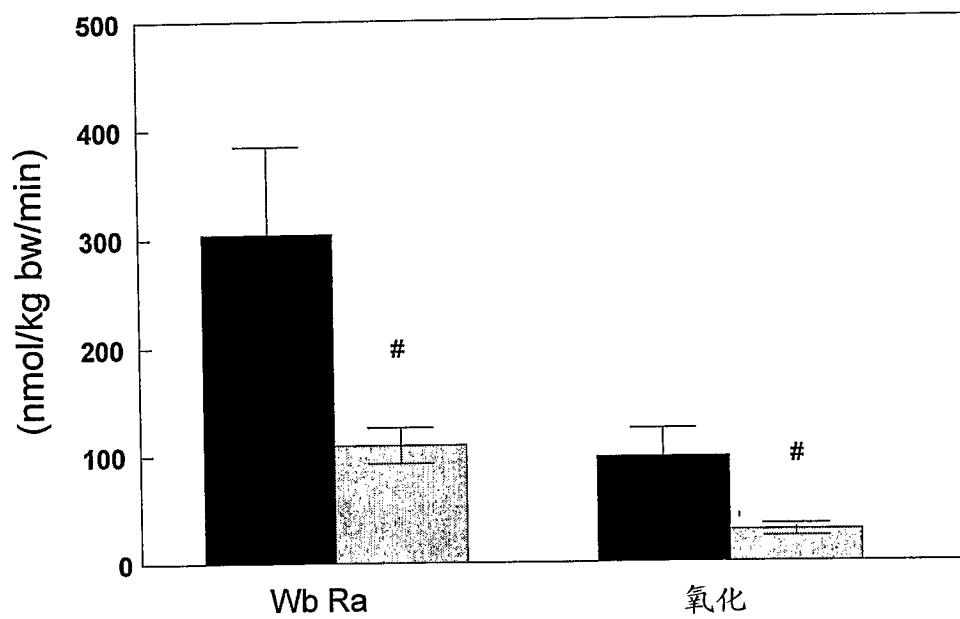


图 6

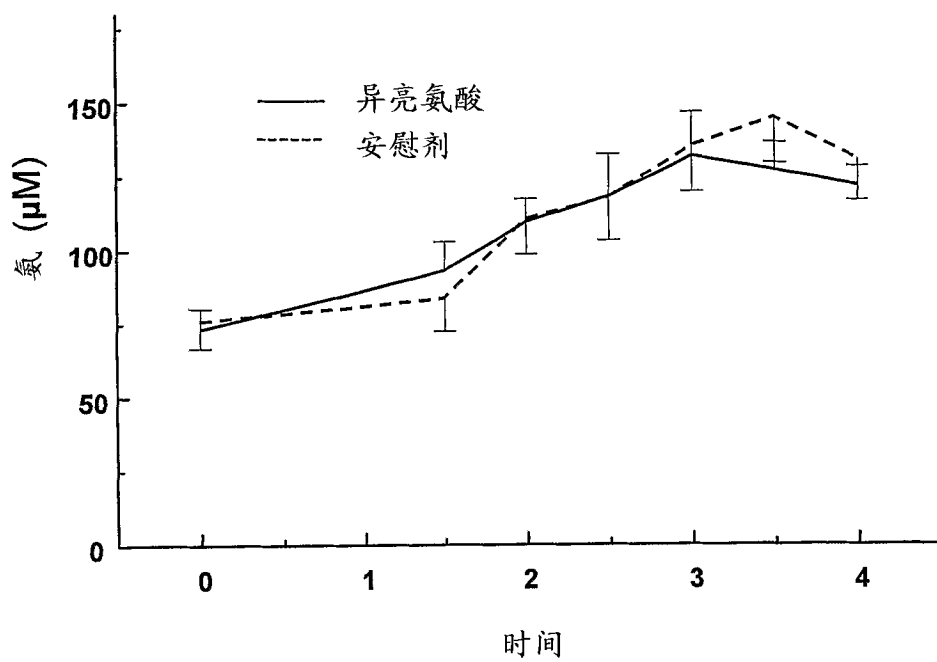


图 7

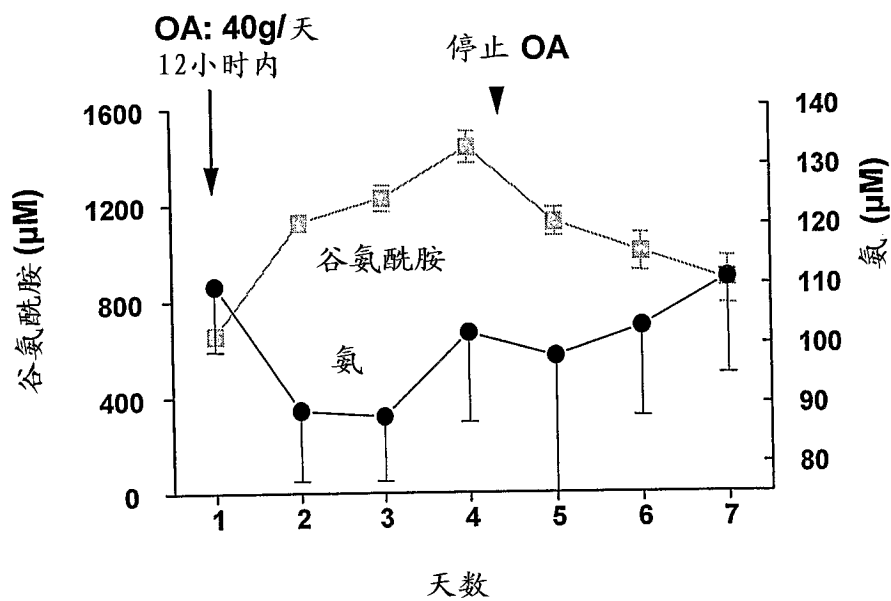


图 8

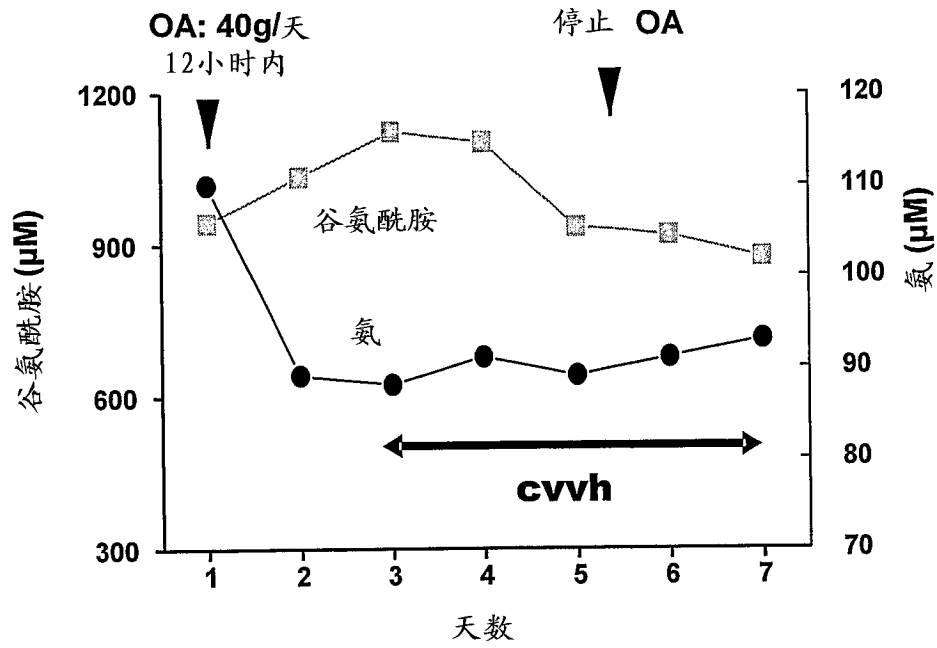


图 9

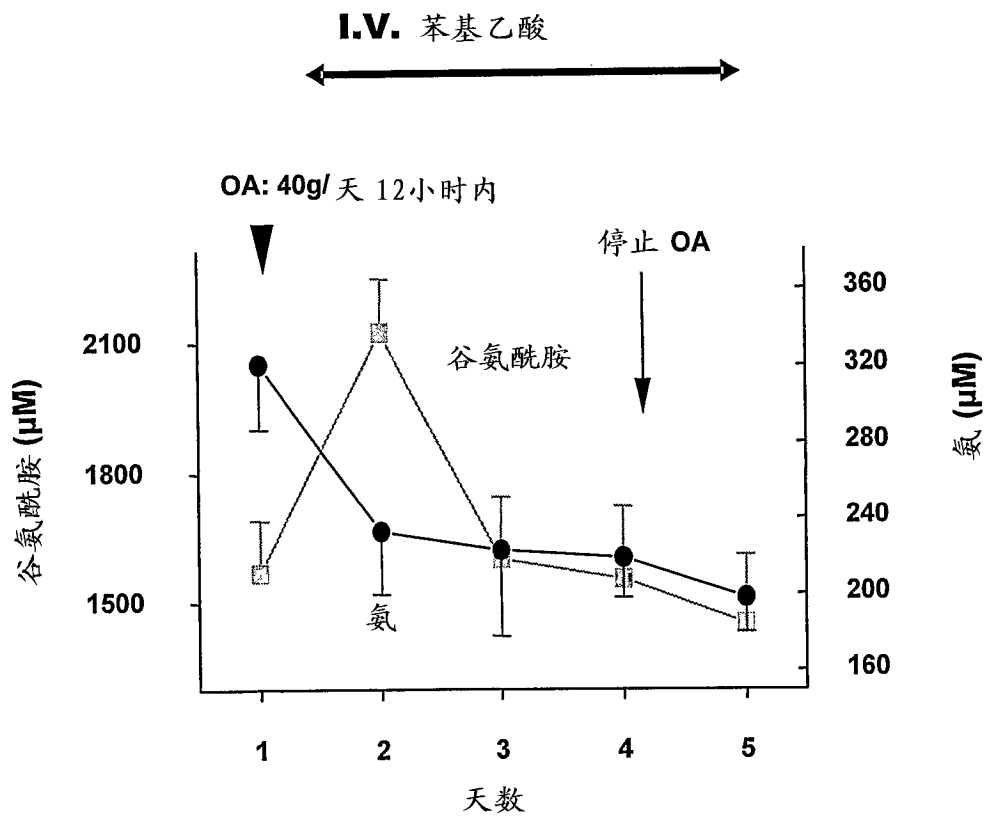


图 10

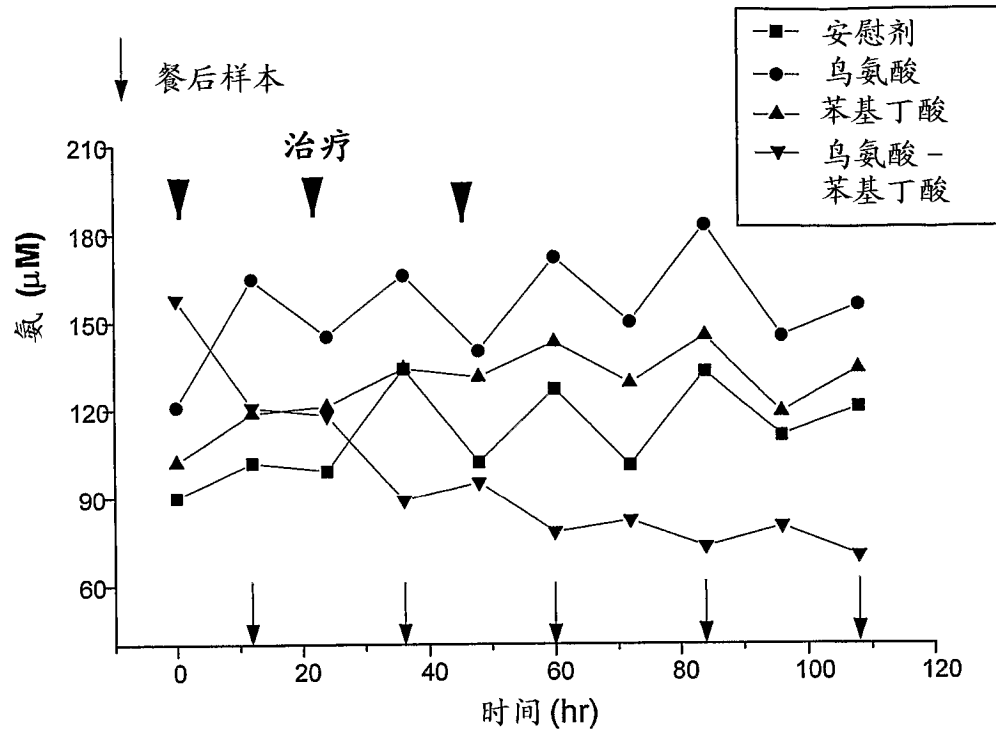


图 11

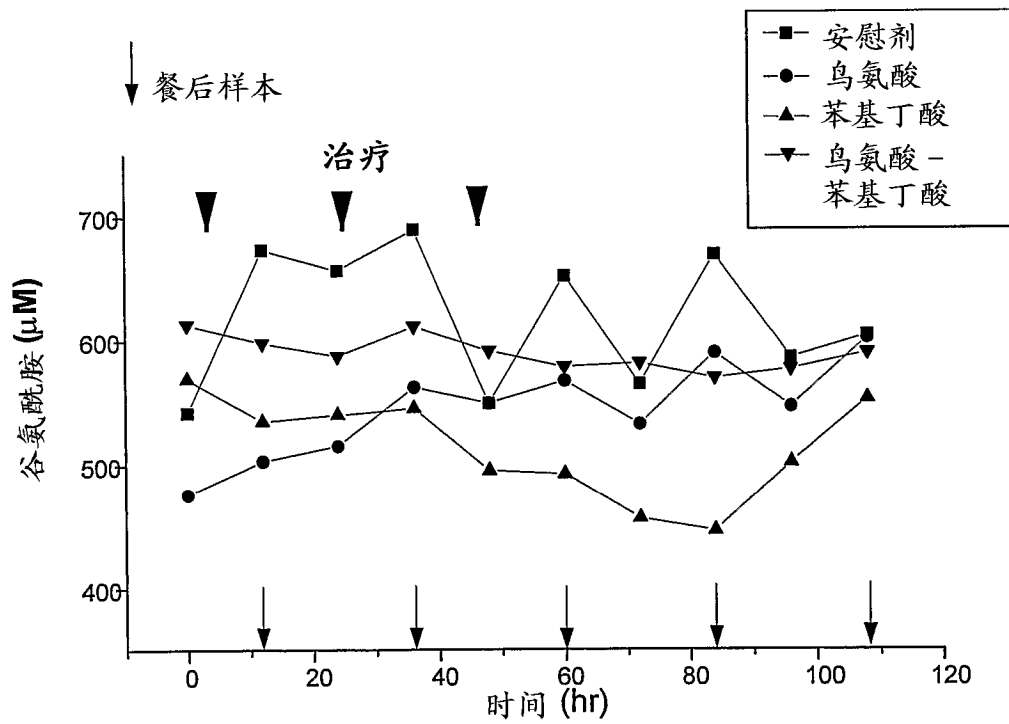


图 12

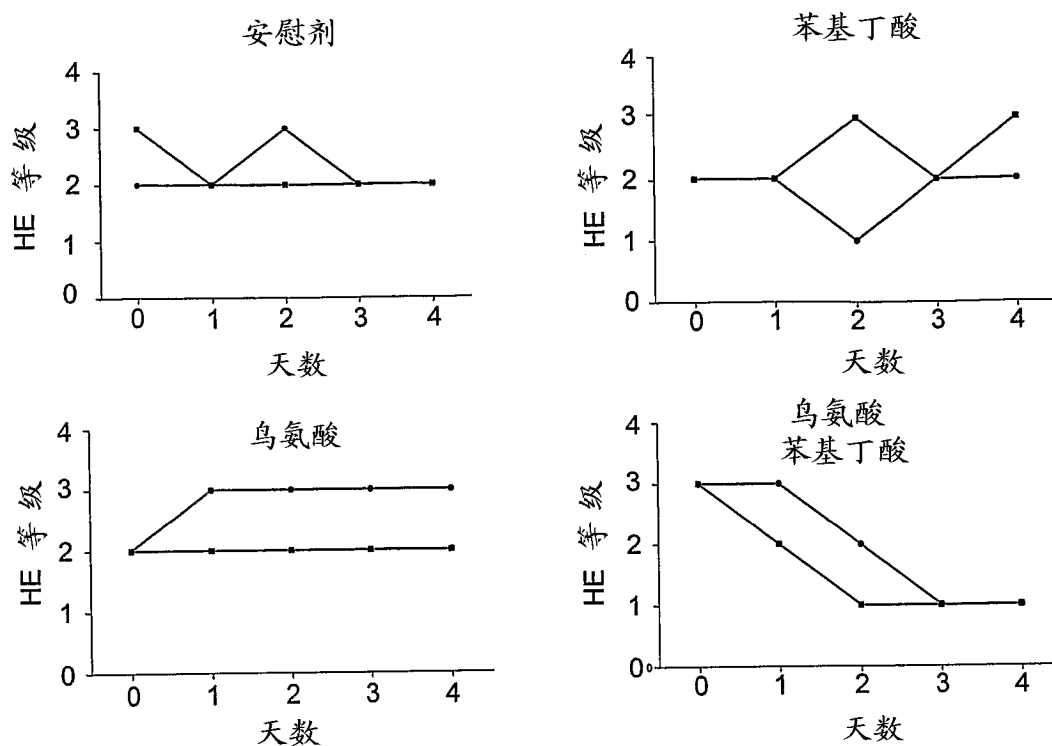


图 13

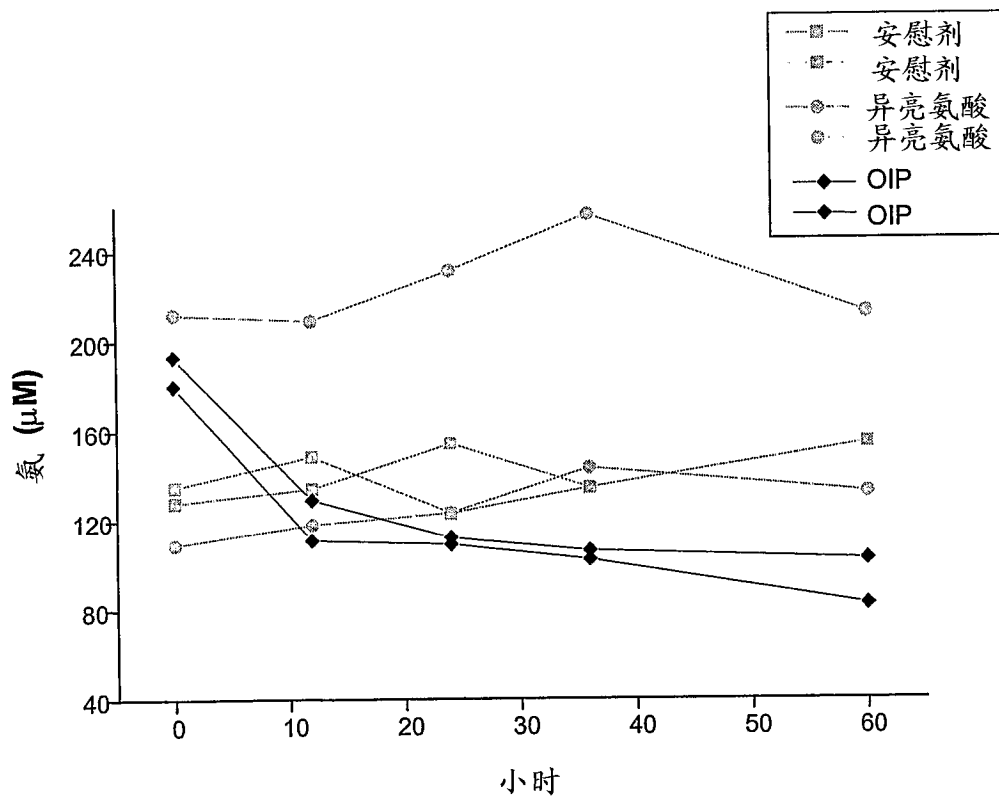


图 14

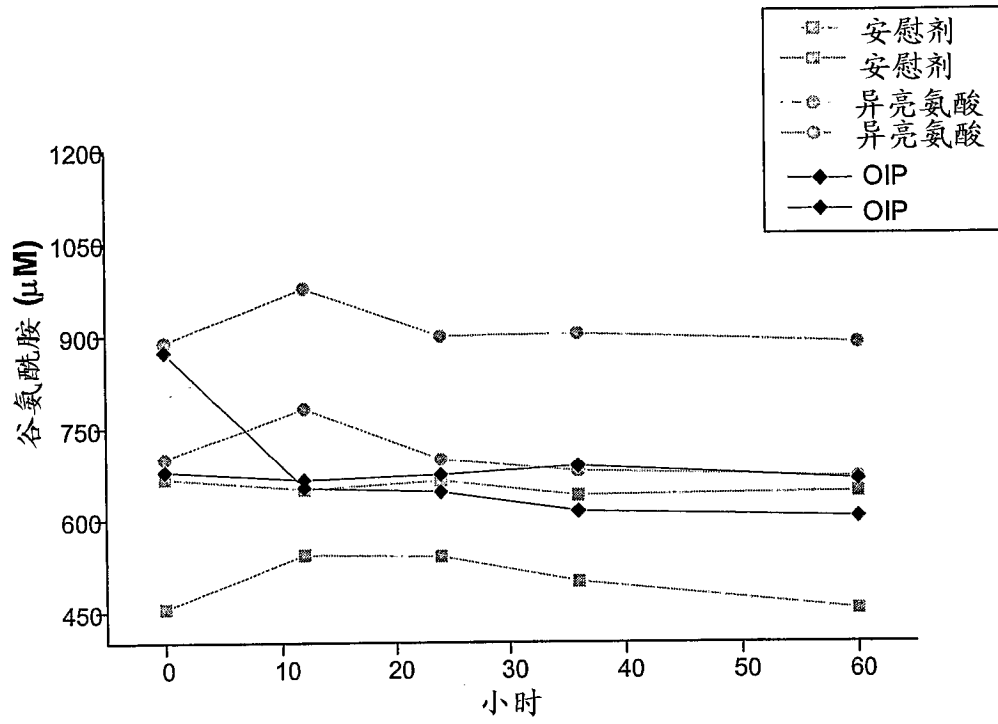


图 15

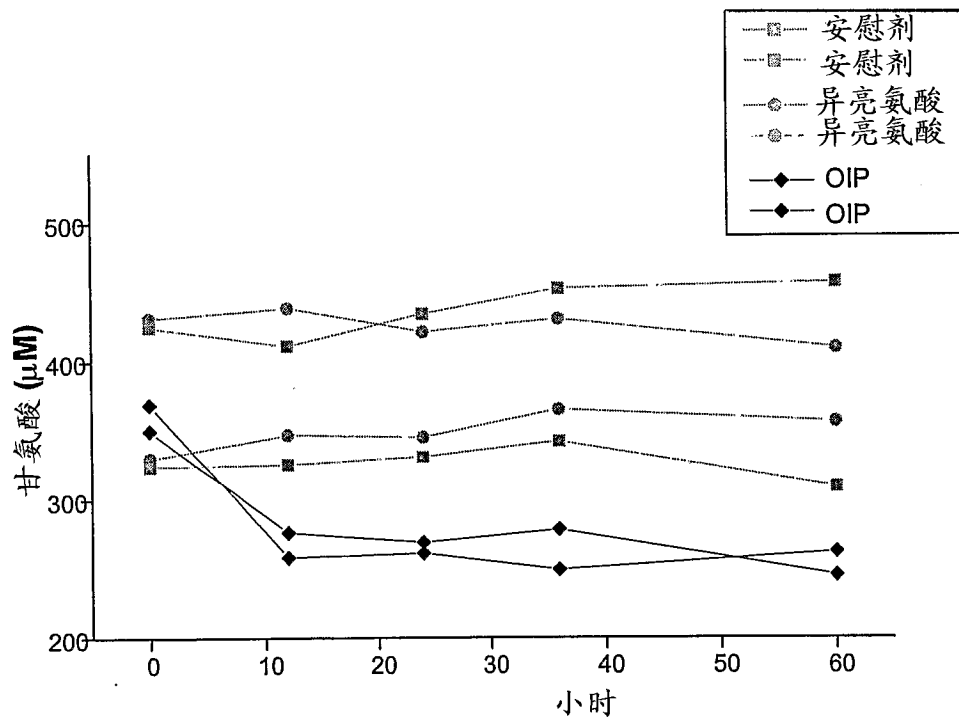


图 16

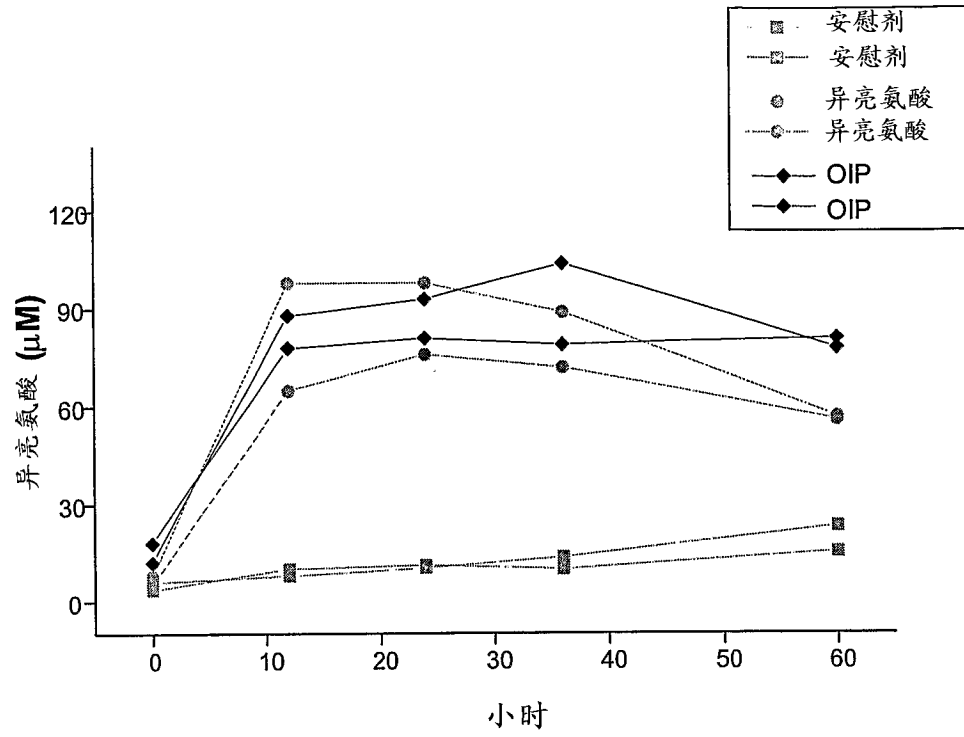


图 17

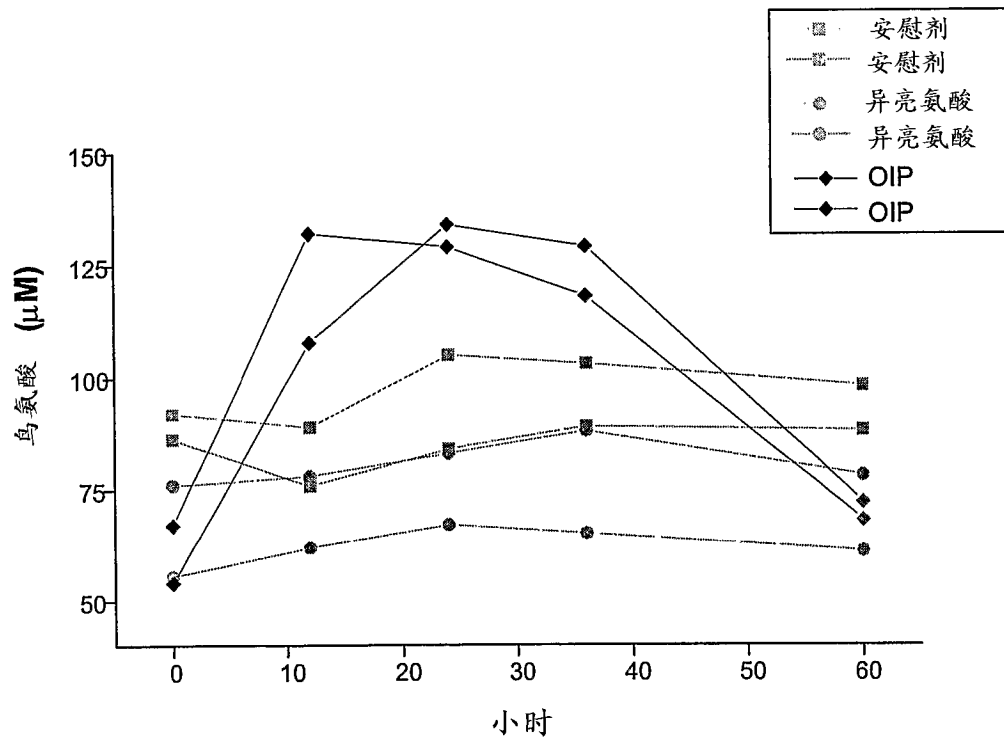


图 18

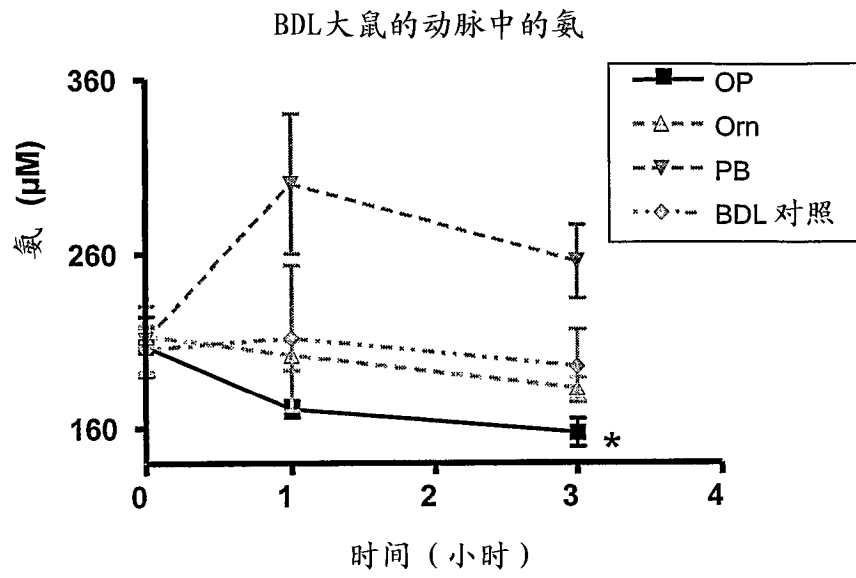


图 19

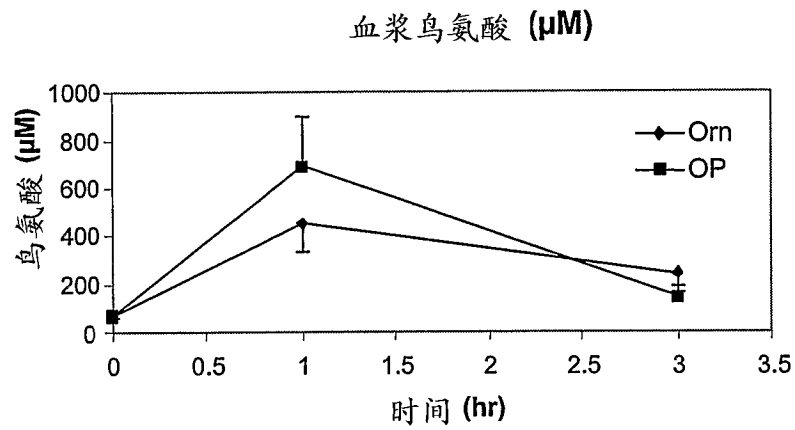


图 20

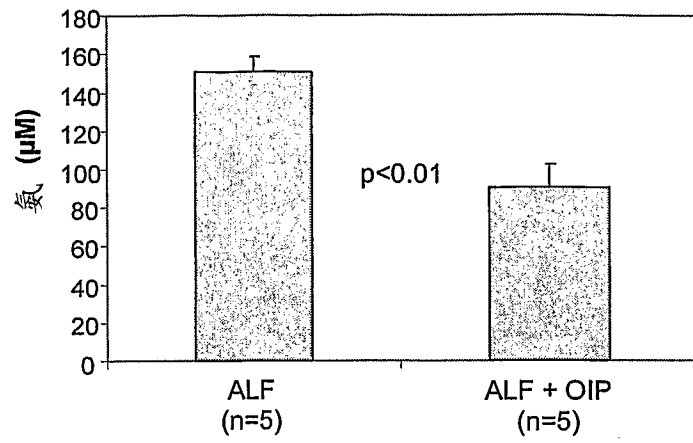


图 21

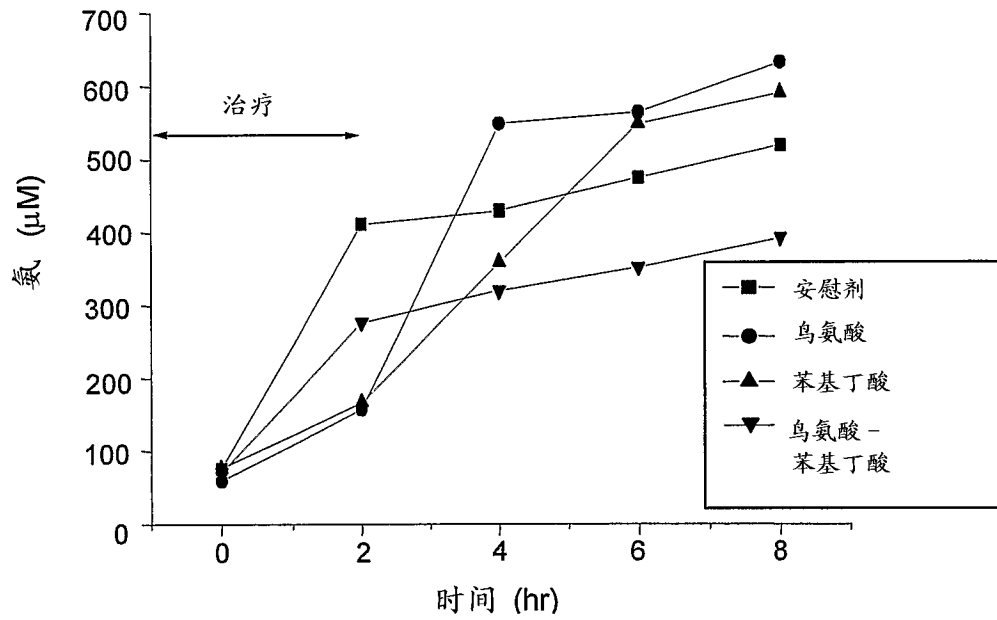


图 22

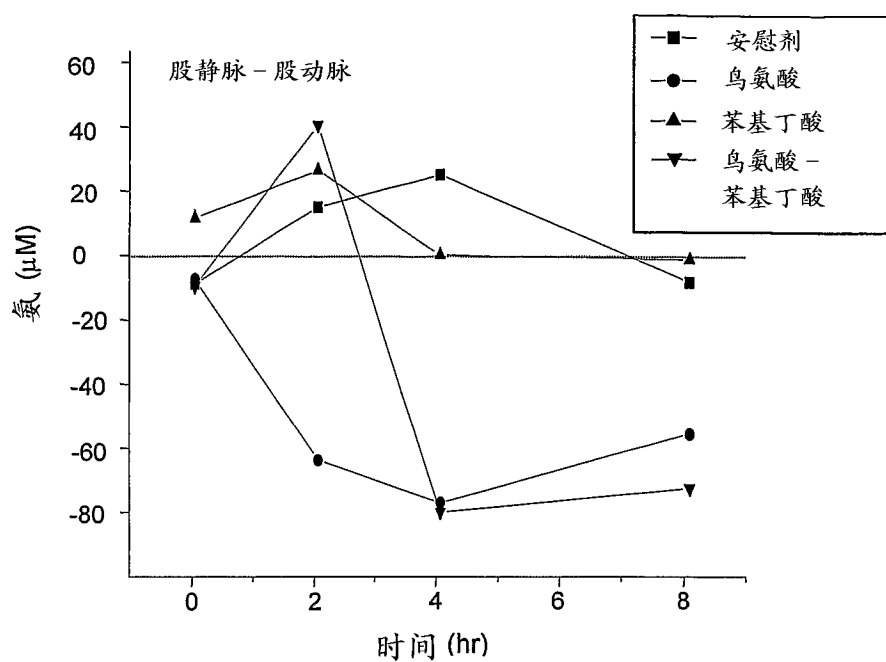


图 23

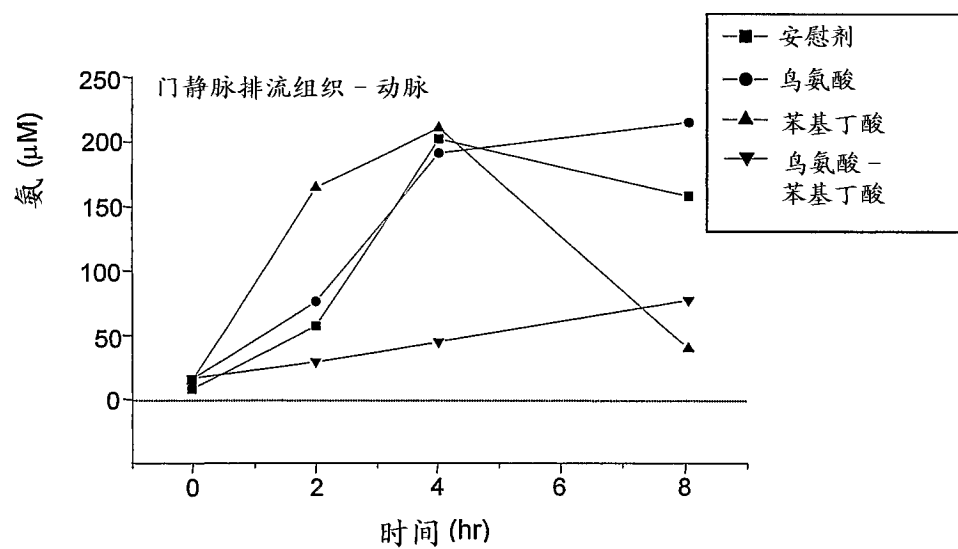


图 24

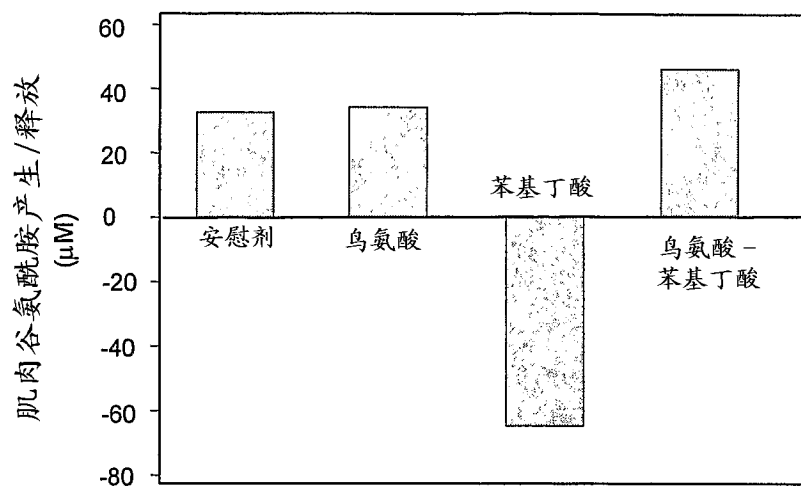


图 25

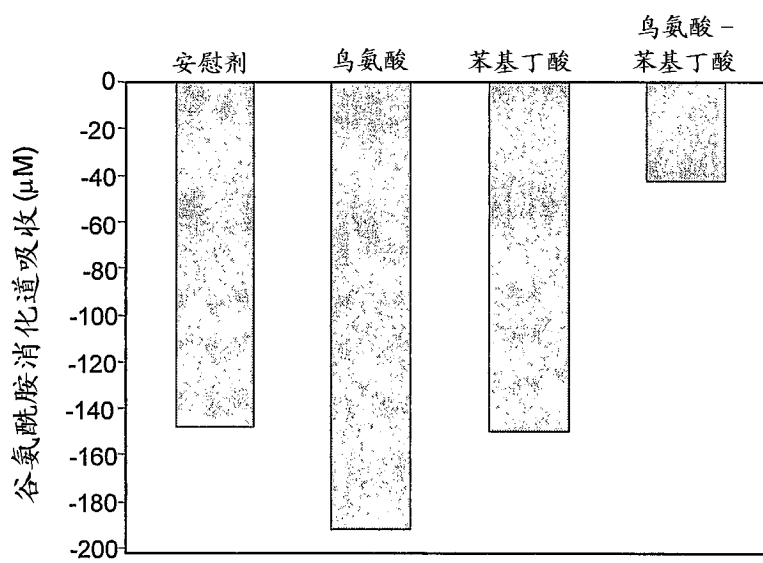


图 26

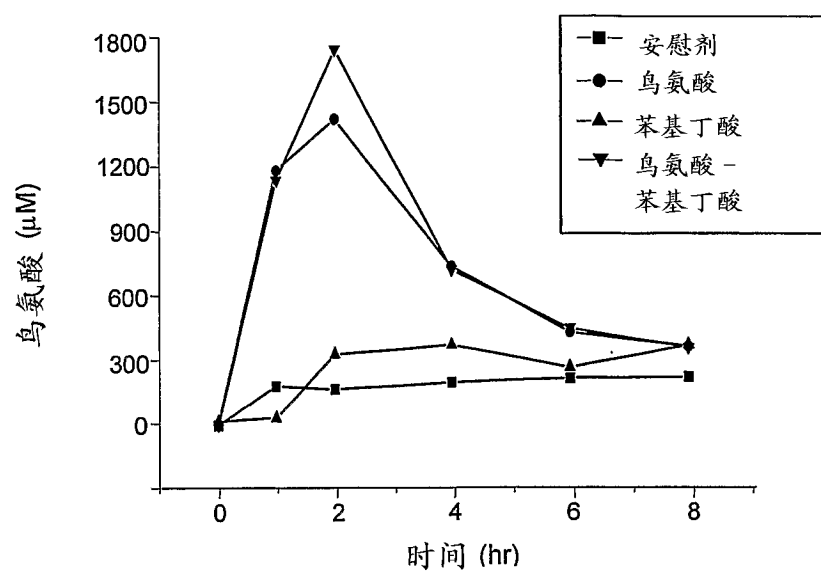


图 27

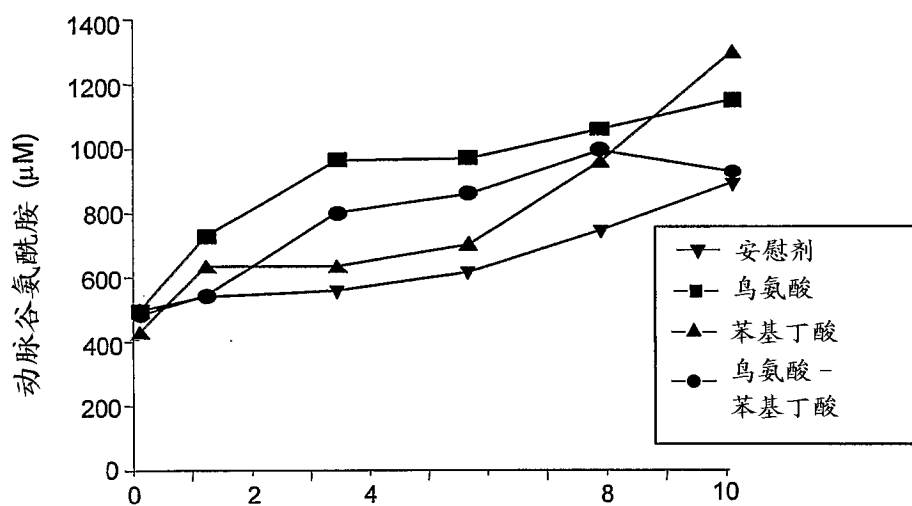


图 28

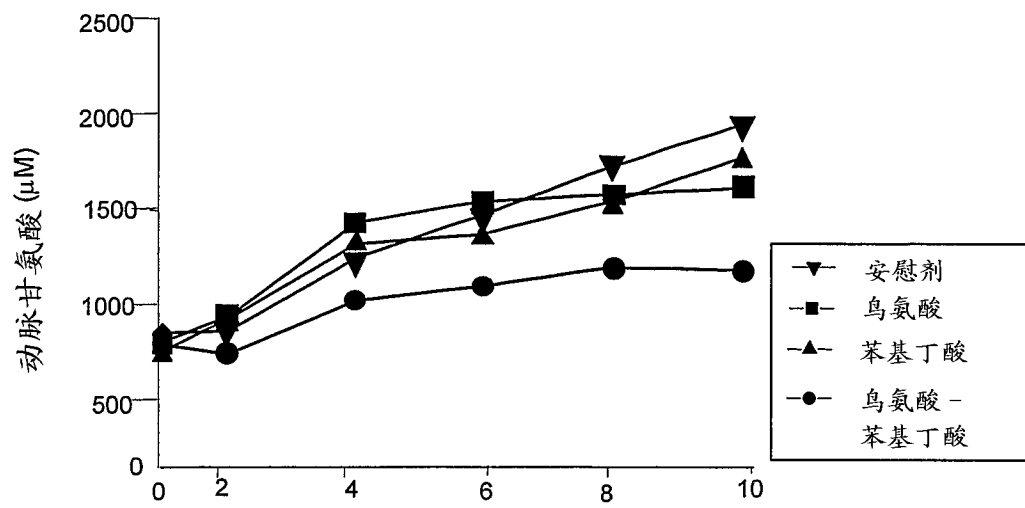


图 29

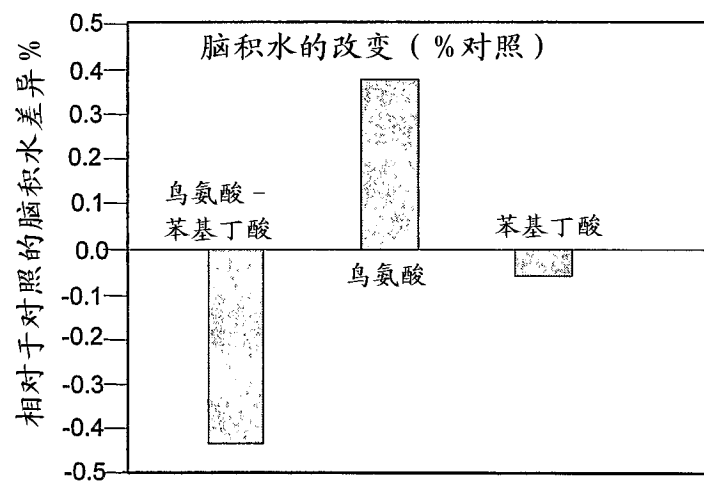


图 30